

Aus der Klinik für Anaesthesiologie
der Ludwig- Maximilians- Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter

**Mikrozirkulatorisches Monitoring mittels Orthogonal
Polarisation Spectral Imaging (OPS) während
herzchirurgischer Eingriffe unter extrakorporaler Zirkulation**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Ludwig- Maximilians- Universität zu
München

vorgelegt von
Sieglinde Schaudig

aus
Schlanders

Jahr 2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. med. F. Christ

Mitberichterstatter: Prof. Dr. S. Nees
Prof. Dr. H. Schad
Prof. Dr. F. Krombach

Mitbetreuung durch den
Promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.2003

Gliederung

1	Einleitung	7
1.1	Klinische Bedeutung mikrozirkulatorischer Veränderungen im perioperativen Monitoring	7
1.2	Veränderung der Makro- und Mikrozirkulation bei Patienten mit Eingriffen unter extrakorporaler Zirkulation	7
1.3	Mögliche Komplikationen unter Anwendung der HLM	8
1.4	Möglichkeiten des mikrozirkulatorischen Monitorings	10
1.4.1	Laser Doppler Fluxmetrie	10
1.4.2	Nah-Infrarot Spektroskopie (NIRS)	11
1.4.3	Intravitalmikroskopie mit Fluoreszenzfarbstoffen	11
1.4.4	OPS (orthogonal polarisation spectral) imaging	12
1.5.1	Klinische Anwendung von OPS imaging	12
1.5.2	Probleme in der klinischen Anwendung von OPS imaging	13
1.6	Fragestellung	14
2	Material und Methodik	16
2.1	Einverständniserklärung	16
2.2	Studiengruppe und Studienprotokoll	16
2.3	Technische Aspekte von OPS imaging	17
2.3.1	Funktionsprinzip	17
2.3.2	Mikrozirkulatorische Parameter	18
2.4	Auswertung mittels Videobildanalysesystem Cap Image	20
2.4.1	Hardware-Konfiguration	21
2.4.2	Software-Konfiguration	21
2.5	Narkose und Patientenmonitoring	22
2.5.1	Die extrakorporale Zirkulation	23
2.5.2	Der totale Kreislaufstillstand	25
2.6	Untersuchungen	25
2.6.1	Hämodynamik	25
2.6.2	Blutproben	26
2.6.3	Flüssigkeitsbilanz	27
2.6.4	Blutgasanalyse	27
2.6.5	Bestimmung der Adhäsionsmoleküle mittels FACScan	28
2.7	Statistik	29
3	Ergebnisse	30
3.1	Perioperativer Verlauf und Komplikationen	30
3.2	Anwendung von OPS imaging	31
3.3	Hämodynamische Veränderungen	32
3.4	Veränderungen der Körpertemperatur	34
3.5	Hämatologische Parameter	35
3.5.1	Hämoglobin-, Hämatokritkonzentration	35
3.5.2	Leukozytenanzahl	35
3.6	Blutgasanalyse	36
3.7	Flüssigkeitsbilanz	38
3.8	Medikamentöse Therapie	41

3.9	Veränderungen der Adhäsionsmoleküle	42
3.10	Veränderungen der mikrozirkulatorischen Parameter in Abhängigkeit von den Messzeitpunkten	44
3.10.1	Erythrozytäre Fliessgeschwindigkeit in den Venolen	44
3.10.2	Durchmesser der Venolen	46
3.10.3	Funktionelle Kapillardichte	46
3.10.4	Anzahl der aktivierten Leukozyten	48
4	Diskussion	49
4.1	Klinische Anwendbarkeit von OPS imaging	49
4.1.1	Vergleichbarkeit der Daten	49
4.1.2	Sicherheit der Anwendung	49
4.1.3	Druck- und Bewegungsartefakte	50
4.1.4	Qualität der Mikrozirkulationsbilder	52
4.1.5	Praktikabilität des Videobildanalysesystems Cap Image	52
4.2	Erhebung der mikrozirkulatorischen Parameter	53
4.2.1	Erythrozytäre Fliessgeschwindigkeit in den Venolen	54
4.2.2	Durchmesser der Venolen	55
4.2.3	Funktionelle Kapillardichte	56
4.3	Nachweis von Mikrozirkulationsstörungen	57
4.3.1	Veränderungen des Blutflusses und der Hämodilution	57
4.3.2	Veränderungen der Adhäsionsmoleküle und aktivierten Leukozyten	59
4.3.3	Leukozytenmigration und „capillary leak“ Syndrom	61
4.4	Veränderungen der mikrozirkulatorischen Parameter in Abhängigkeit von der Dauer der extrakorporalen Zirkulation und des Kreislaufstillstands	62
4.5	Veränderungen der mikrozirkulatorischen Parameter in Abhängigkeit von der Hypothermie	62
4.6	Diagnostisches Potential von OPS imaging hinsichtlich eines Ischämie-Reperfusions-Schadens und SIRS	63
4.7	Limitationen von OPS imaging und Verbesserungen für Folgestudien	64
5	Zusammenfassung	66
6	Bildmaterial	69
7	Literaturverzeichnis	82
8	Abkürzungen	90
9	Danksagung	92
10	Lebenslauf	93
11	Publikationen	95

Abbildungen

Abbildung 1: Einverständniserklärung	70
Abbildung 2: Vergleich der Gefässdarstellung mittels IVM und OPS™ A/R imaging in der Hamsterrückenhautkammer	71
Abbildung 3: Funktionsprinzip von OPS imaging	72
Abbildung 4: Abbildung des Geräts Cytoscan™ A/R	73
Abbildung 5: OPS imaging- Bild der sublingualen Mikrozirkulation mit Darstellung postkapillärer Venolen und Kapillaren	74
Abbildung 6: Darstellung rollender und adhärenter Leukozyten	75
Abbildung 7: Messung der erythrozytären Fliessgeschwindigkeit in postkapillären Venolen mittels Cap Image	76
Abbildung 8: Darstellung eines Line Shift Diagramms	77
Abbildung 9: Messung des postkapillären Venolendurchmessers mittels Cap Image	78
Abbildung 10: Messung der Funktionellen Kapillardichte mittels Cap Image	79
Abbildung 11: Mikrozirkulatorische Veränderungen unter Hämodilution	80
Abbildung 12: Darstellung der sublingualen Mikrozirkulation innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstands	81

Tabellen und Diagramme

Tabelle1: Demographische Daten und operative Zeitangaben	30
Tabelle 2: Prä- und postoperative Zeitangaben ³¹	
Tabelle 3: Intraoperativer Verlauf der hämodynamischen Werte für systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Druck, sowie zentralen Venendruck in Gruppe 1	32
Tabelle 4: Intraoperativer Verlauf der hämodynamischen Werte für systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Druck, sowie zentralen Venendruck in Gruppe 2	33
Tabelle 5: Intraoperativer Verlauf des mittleren pulmonalarteriellen Druckes, des Wedgedruckes, des Herzzeitvolumens, des Herzindex, des systemischen Gefäßwiderstands, des pulmonalvaskulären Gefäßwiderstands und des Sauerstoffangebotsindex	34
Tabelle 6 : Veränderung der oralen Körpertemperatur	35
Tabelle 7 : Intraoperativer Verlauf der Hämoglobin-, Hämatokrit- und Leukozytenkonzentration in Gruppe 1	36
Tabelle 8 : Intraoperativer Verlauf der Hämoglobin-, Hämatokrit- und Leukozytenkonzentration in Gruppe 2	36
Tabelle 9: Intraoperativer Verlauf der Parameter der Blutgasanalyse in Gruppe 1	37
Tabelle 10: Intraoperativer Verlauf der Parameter der Blutgasanalyse in Gruppe 2	37
Tabelle11: Flüssigkeitsbilanz in Gruppe 1	40
Tabelle12: Flüssigkeitsbilanz in Gruppe 2	41
Tabelle 13: Perioperative medikamentöse Gabe von Dopamin, Noradrenalin, Adrenalin, Milrinon und Isoprenalin in Gruppe 1	42
Tabelle 14: Perioperative medikamentöse Gabe von Dopamin, Noradrenalin, Adrenalin, Milrinon und Isoprenalin in Gruppe 2	42
Diagramm 15: Intraoperativer Verlauf des Adhäsionsmoleküls CD 62L	43
Diagramm 16: Intraoperativer Verlauf des Adhäsionsmoleküls CD 18	44
Diagramm 17: Veränderung der erythrozytären Fließgeschwindigkeit in Gruppe 1	45
Diagramm 18: Veränderung der erythrozytären Fließgeschwindigkeit in Gruppe 2	45
Tabelle 19: Durchmesser der Venolen in Gruppe 1 und 2	46
Diagramm 20: Veränderung der Funktionellen Kapillardichte in Gruppe 1	47
Diagramm 21: Veränderung der Funktionellen Kapillardichte in Gruppe 2	47
Tabelle 22: Anzahl der postkapillären Venolen und der aktivierten Leukozyten	48

1 Einleitung

1.1 Klinische Bedeutung mikrozirkulatorischer Veränderungen im perioperativen Monitoring

Angesichts der tiefgreifenden Veränderungen in der Bevölkerungsstruktur der Industrienationen mit Anstieg von Durchschnittsalter und Lebenserwartung stellt die Behandlung multimorbider Patienten eine Herausforderung für die Medizin dar. Arteriosklerotische Prozesse mit Veränderungen im Bereich der Makrozirkulation können sich unter anderem als arterieller Hypertonus, koronare Herzerkrankung, periphere arterielle Verschlusskrankung oder arterielles Aneurysma manifestieren. Deren gemeinsame Pathogenese führt häufig zu einer Kombination mehrerer dieser Krankheitsbilder und stellt für die internistische, anästhesiologische und chirurgische Behandlung eine Herausforderung dar. In den letzten Jahrzehnten hat sich das perioperative Monitoring und Management vor allem auf die Normalisierung makrozirkulatorischer Parameter konzentriert. Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre zeigen aber, dass gerade Veränderungen der Mikrozirkulation für Schäden der Zell- und Organfunktion verantwortlich sind^{13;57}. Daher könnte die frühzeitige Diagnostik mikrozirkulatorischer Veränderungen im perioperativen Monitoring eine entscheidende Rolle bei der Prävention postoperativer Komplikationen spielen.

Vor allem in der Herzchirurgie wäre ein mikrozirkulatorisches Monitoring von grundlegender Bedeutung, da durch die Anwendung der Herz- Lungen- Maschine (HLM) makro- und mikrozirkulatorische Veränderungen auftreten.

1.2 Veränderung der Makro- und Mikrozirkulation bei Patienten mit Eingriffen unter extrakorporaler Zirkulation

Die moderne Ära der Herzchirurgie begann mit der Einführung der Herz- Lungen- Maschine in den frühen 50 -iger Jahren. Herzchirurgische Operationen mit der Notwendigkeit des Einsatzes der HLM, hier vor allem die koronare Bypass- Operation (CABG), sind die häufigsten chirurgischen Eingriffe in der westlichen Welt. Basierend auf der STS-Datenbank werden mehr als 165.000 CABG- Operationen jährlich durchgeführt {STS U.S. Cardiac Surgery Database 2002. www.sts.org}.

Die grundlegenden physiologischen Veränderungen, welche durch die Anwendung der HLM initialisiert werden, sind Veränderung des pulsatischen Blutflusses, Exposition des

Blutes an unphysiologische Oberflächenstrukturen und Scherkräfte, sowie Auslösung einer überschiessenden systemischen inflammatorischen Reaktion⁵⁰.

Durch die extrakorporale Zirkulation kommt es sowohl materialabhängig als auch materialunabhängig zu Veränderungen der Makro- und Mikrozirkulation. Materialabhängige Faktoren, wie die Exposition des Blutes an die Oberflächenstruktur des HLM- Systems können zu Thrombusbildung und zur Auslösung eines SIRS (systemic inflammatory response syndrome) führen¹⁰³.

Mikrozirkulatorische Veränderungen treten auch durch die Umwandlung des pulsatilen Flusses des Herzens in einen durch die HLM produzierten nicht- pulsatilen, kontinuierlichen Fluss auf^{76;98;99}.

Materialunabhängige Veränderungen, wie die Abkühlung der Körpertemperatur des Patienten mittels Wärmeaustauscher auf 28- 32°C und die Hämodilution, beeinflussen die Mikrozirkulation ebenfalls^{50;71;100;102}.

Die unter anderem auch durch die Priming Lösung (das Vorfüllvolumen für die Herz- Lungen-Maschine) erzielte Hämodilution (Reduktion der Hämoglobinkonzentration des Blutes verursacht durch Gabe nicht- Hämoglobin- haltiger Substanzen) vermindert die Viskosität des Blutes und verbessert damit die Perfusion der Organe. Dies spielt insbesondere während der Hypothermie eine Rolle, da die Blutviskosität mit zunehmendem Abfall der Körpertemperatur ansteigt^{22;34; 56;67}.

Die Abklemmung der Aorta (clamping) und die Wiedereröffnung (declamping) führen ebenso zu hämodynamischen Alterationen.

1.3 Mögliche Komplikationen unter Anwendung der HLM

Hämatologische Auswirkungen

Während herzchirurgischer Eingriffe unter extrakorporaler Zirkulation können Alterationen aller 3 korpuskulären Blutbestandteile mit erhöhter Rigidität der Erythrozyten und Thrombozyten- und Leukozytenaktivierung beobachtet werden. Durch den Kontakt des Blutes mit der Oberflächenstruktur der HLM kann es zur Thrombozytenadhäsion und zur Bildung von Mikroaggregaten mit heterogener Perfusion oder Lumenverlegung und Perfusionsausfall kommen^{40;56}.

Um die Gefahr thromboembolischer Komplikationen zu minimieren ist die vorübergehende Inhibition der Gerinnung mittels Heparin erforderlich. Nach der HLM erfolgt die Wiederherstellung der normalen Hämostase durch Gabe von Protamin. Auch kann ein Abfall der Thrombozytenzahl infolge Hämodilution, Zerstörung durch

Kardiotomie- Sauer oder Filter beobachtet werden. Thrombozytendysfunktion infolge Hypothermie oder Heparinabgabe kann zu Gerinnungsstörungen führen⁴⁰.

Erythrozyten verlieren während der HLM ihre Verformbarkeit und scheinen dadurch Störungen der Mikrozirkulation hervorzurufen^{49;50}. Zudem kann es zur Hämolyse durch Exposition der Erythrozyten an unphysiologische Scherkräfte der HLM und zur Schädigung durch den Kardiotomie- Sauer kommen⁴⁰.

Die HLM führt über eine Leukozytenaktivierung zur Schädigung des Gefässendothels und zum vermehrten Flüssigkeitsaustritt ins Interstitium (capillary leak syndrome)¹¹. Nach der Leukozytenaktivierung nimmt der Durchmesser der Leukozyten um ca. 20- 30 % zu und die Rigidität steigt bis um ein 100- faches an¹⁰⁶. In Folge kann es zur Leukozytenaggregation und Retention in Kapillaren kommen mit Beeinträchtigung der nutritiven Blutversorgung^{11;15}.

SIRS, Sepsis, MODS

Die Veränderungen der Makro- und Mikrozirkulation unter HLM führen ebenso wie das chirurgische Trauma zu Komplementaktivierung, Freisetzung von Zytokinen, Leukozytenaktivierung mit Expression von Adhäsionsmolekülen und zur Produktion verschiedener Substanzen, wie freie Sauerstoffradikale, Arachidonsäuremetaboliten, Endothelin, Stickstoffoxid (NO) und Plättchen- Aktivierungsfaktor (PAF)^{2;80;104}. Die Freisetzung dieser Substanzen kann wiederum eine Reihe von Komplikationen, wie SIRS, Ischämie- Reperfusions- Schäden und neurokognitive Defizite zur Folge haben^{52;70;80;81;90;104}.

1991 wurde in der Konsensus Konferenz der Society of Critical Care Medicine (SCCM) und dem American College of Chest Physicians (ACCP) der Versuch unternommen eine Reihe allgemeingültiger Definitionen für SIRS, Sepsis und das multiple Organversagen (multiple organ dysfunction syndrome = MODS) zu finden¹.

SIRS kann sich klinisch durch zwei oder mehrere der folgenden Symptome manifestieren: Rektale Körpertemperatur grösser 38°C oder kleiner 36°C, Herzfrequenz grösser 90 Schläge/Min, Atemfrequenz grösser 20/Min oder PaCO₂ kleiner 4,3 kPa und Leukozytenzahl im Blut grösser 12.000 Zellen/mm³ oder kleiner 4000 Zellen/mm³. SIRS kann durch infektiöse oder nicht- infektiöse Agens, wie chirurgische Traumata, beispielsweise durch herzchirurgische Eingriffe, hervorgerufen werden. Sepsis hingegen wird als SIRS mit nachweisbarem Infektionsherd bezeichnet. Beides kann in ein Multiorganversagen übergehen⁹⁰. In Folge kommt es vermehrt zu peripherer

Vasodilatation, erhöhter mikrovaskulärer Gefässpermeabilität mit Ödembildung, mikrovaskulärer Thrombenbildung, Leukozyten- Endothelzellaktivierung und Perfusionsstörungen¹⁷. Für uns stellt sich die Frage, ob diese Veränderungen mittels mikrozirkulatorischem Monitoring frühzeitig detektierbar sind und somit weitere Komplikationen vermeidbar wären. Auch lassen sich bessere therapeutische Strategien nur dann entwickeln, wenn ein solides Wissen um die Mechanismen und die Art der Veränderungen der Mikrozirkulation vorliegt.

Ischämie- Reperfusionsschaden

Der Ischämie- Reperfusionsschaden ist ein komplexes Themengebiet, das 1983 von Rosenkranz und Buckberg⁷⁹ definiert wurde als „those metabolic, functional and structural consequences of restoring coronary arterial flow.....that can be avoided or reversed by modification of the conditions of reperfusion“⁴⁵.

Ischämie wird als Minderdurchblutung eines Gewebes infolge unzureichender (relative Ischämie) oder fehlender (absolute Ischämie) arterieller Blutzufuhr definiert. Der Einsatz der HLM und das Abklemmen der Aorta können mikrovaskuläre Störungen, Thrombozytenaggregation und koronare Gefäßspasmen initialisieren und dadurch zu transienten, multiplen und variablen ischämischen Episoden führen^{16;27;37;44;63}.

In der Konsequenz ist die Bemühung um ein klinisch einsetzbares diagnostisches Gerät verständlich, welches relevante Informationen zur Mikrozirkulation während und nach extrakorporaler Zirkulation und frühzeitige Hinweise auf einen Ischämie-Reperfusionsschaden liefern kann.

1.4 Möglichkeiten des mikrozirkulatorischen Monitorings

Zum Monitoring der Mikrozirkulation stehen eine Reihe von nicht- invasiven optischen Techniken zur Verfügung.

1.4.1 Laser Doppler Fluxmetrie (LDF)

Bei der Laser Doppler Fluxmetrie (LDF) wird monochromatisches Laserlicht in das zu untersuchende Gewebe emittiert. Das remittierte Licht als Ergebnis der Interaktion des Laserlichts mit sich bewegenden Erythrozyten wurde erstmals von Stern 1975 beschrieben⁸⁹. Durch Verrechnung des „Doppler Shifts“ kann der Erythrozytenfluxwert angegeben werden. Nach einem Gefäßverschluss in vivo, beobachtet man einen LDF-Fluss grösser Null. Dieses „biologische Zero“, bedingt durch Vasomotion sollte gemessen und vom Fluss- Signal subtrahiert werden⁹². Die LDF- Technologie ist einfach und

zeitsparend anzuwenden. Nachteilig sind die geringe Eindringtiefe des Laserlichts von ca. 1 mm, die grosse Variabilität der erhaltenen Messwerte und das Fehlen von Absolutwerten, was einen interindividuellen Vergleich erschwert^{10;13;41}. Das remittierte Signal stammt im wesentlichen aus dem subpapillären Gefässplexus, welcher nicht der nutritiven Versorgung der Haut dient. Rückschlüsse auf die nutritive, kapilläre Blutversorgung der Haut lassen sich daher nicht machen. Belboul und Mitarbeiter setzten LDF auch bei koronaren Bypassoperationen im Bereich der epikardialen Mikrozirkulation ein³. Der routinemässige Einsatz des LDF als mikrozirkulatorisches Monitoring hat sich aufgrund der grossen Variabilität der erhaltenen Messwerte und durch das Fehlen von Absolutwerten nicht durchsetzen können¹³.

1.4.2 Nah- Infrarot Spektroskopie (NIRS)

NIRS ist ein nicht- invasives, optisches Verfahren, für welches gepulstes monochromatisches Licht (z.B. 6 Wellenlängen von 770- 910 nm) zur semiquantitativen Berechnung des oxygenierten Hämoglobin- und Cytochrom- aa3- Gehaltes von Gewebe benutzt wird. Die Methode wurde von Jöbsis für das zerebrale und myokardiale Monitoring entwickelt⁴⁸, jedoch in der Folge auch für die Untersuchungen anderer Organe angewendet^{12;42;59}. Der Vorteil dieser Technik liegt vor allem in der hohen Eindringtiefe des Signals, wodurch z.B. transkranielle Messwerte erhoben werden können. Weiterhin kann durch den Cytochrom- aa3- Wert eine Aussage über die zelluläre Oxygenierung getroffen werden¹³. Leider ist auch bei dieser Methode keine Kalibrierung der Messwerte möglich und es können nur relative Veränderungen wiedergegeben werden.

1.4.3 Intravitalmikroskopie mit Fluoreszenzfarbstoffen

Die Technik der Intravitalmikroskopie hat unser Verständnis für die Veränderungen der Mikrozirkulation in Erkrankungen, wie Sepsis, Ischämie- Reperfusionsschaden und Schock geprägt und quantitative Messungen ermöglicht²⁵. Durch die Notwendigkeit der systemischen Applikation von phototoxischen Fluoreszenzfarbstoffen (Fluorescein- Isothiocyanat) ist diese Technik der Epi- Illumination jedoch beschränkt einsetzbar⁸². Limitierte Einsätze am Menschen sind an Haut, Nagelfalz und Konjunktiva möglich²⁴. Anwendung findet diese Technik vor allem in der Erforschung von Hautkrankheiten und chronischer Erkrankungen wie Diabetes mellitus^{95;96}. Die Intravitalmikroskopie ermöglicht zudem die Darstellung der Interaktion der Blutzellen mit dem Gefässendothelium (z.B. Leukozyten und Thrombozyten) und die Visualisierung des „capillary leak syndrome“^{13;33}.

Auch diese Methodik hat keinen Einsatz als mikrozirkulatorisches Monitoringverfahren im klinischen Alltag gefunden.

1.4.4 OPS (orthogonal polarisation spectral) imaging

Groner, Winkelmann, et al. stellten im Oktober 1999 in der Zeitschrift „Nature Medicine“ eine neue Technologie, die orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung, auch OPSTM A/R imaging genannt, vor³⁰. OPSTM A/R imaging ist eine neue Methode für die nicht-invasive Visualisierung der Mikrozirkulation in vivo^{14;19;30;32;61;62;86}. Im Gegensatz zur konventionellen Fluoreszenz- Mikroskopie, braucht man keine Farbstoffe zur Kontrastverbesserung. Durch den Einsatz von speziellen Optiken, werden „Durchlicht“-ähnliche Bilder in einem Auflichtverfahren erzeugt. Ursprünglich wurde diese Technik der Epi- Illumination mit polarisiertem Licht 1987 von Slaaf und Mitarbeitern beschrieben⁸⁶.

Das CytoscanTM A/R besteht aus der OPS imaging Sonde (Cytometrics, Inc., Philadelphia, PA, USA) und einer externen Lichtquelle. Zur Aufzeichnung der sublingualen Mikrozirkulationsbilder verwendeten wir zusätzlich einen PAL- Videorecorder (Panasonic, Video cassette Recorder AG-7350, Osaka, Japan) und einen Monitor (Sony PVM-97, Tokyo, Japan).

Die Lichtquelle produziert weißes Licht. Durch einen Polarisator wird Licht einer bestimmten Wellenlänge (548 nm) isoliert und linear polarisiert. Das polarisierte Licht wird über die Scheibe eines halbdurchlässigen Spiegels orthogonal (im 90° Winkel) auf das zu untersuchende Gewebe geworfen. Auf das Gewebe fallendes Licht wird z.T. an der Oberfläche reflektiert und z.T. im Gewebe gestreut und depolarisiert. Das zur Bildgebung beitragende depolarisierte Licht wird dann von einem Analysator gesammelt und an eine „Charge Coupled Device“ (CCD) Videokamera weitergeleitet. An der Oberfläche reflektiertes Licht trägt nicht zur Bildgebung bei und wird vom Analysator abgefiltert.

1.5.1 Klinische Anwendung von OPS imaging

OPS imaging wurde erstmals von unserer Arbeitsgruppe als mikrozirkulatorisches Monitoring während herzchirurgischer Eingriffe unter extrakorporaler Zirkulation eingesetzt. Tierexperimentelle Validierungsversuche gingen der klinischen Anwendung voraus. Dabei wurden die Parameter venolärer Gefäßdurchmesser, venoläre Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit und Funktionelle Kapillardichte validiert und mit den Werten der Intravitalmikroskopie verglichen^{30;32}. Mathura und Mitarbeiter konnten nachweisen, dass

auch Messungen am Menschen mittels Kapillarmikroskopie und OPS imaging am Nagelfalz vergleichbare Daten liefern⁶².

Grundsätzlich kann die Mikrozirkulation an verschiedenen Geweben und Organen ohne den Einsatz von Fluoreszenzfarbstoffen visualisiert werden. Die Mikrozirkulation kann mittels OPS imaging im Bereich der Konjunktiva, der Mundschleimhaut, der Zunge, den Lippen, an der Haut in Zonen geringer Verhornung z.B. periocculär, periungual und in Wunden dargestellt werden^{14;19;30;53;62}.

Intraoperativ kann die Mikrozirkulation an der Oberfläche innerer Organe, wie Leber⁵⁴, Herz⁸, Pankreas, Colon^{5;6}, Pia mater und Gehirn^{60;94} visualisiert werden.

1.5.2 Probleme in der klinischen Anwendung von OPS imaging

Die OPS imaging- Sonde ist einfach zu handhaben und die Sondenspitze, welche Kugelschreibergröße aufweist, leicht sublingual zu positionieren. Die Mundschleimhaut sollte mit Natriumchloridlösung 0,9 % gespült werden, um Verunreinigungen zu entfernen und um den Kontakt zwischen Sonde und Schleimhaut zu verbessern. Die sterile Handhabung der OPS imaging- Sonde wird durch sterile Schutzhüllen (CytolensTM) ermöglicht und das Gerät wurde vor und nach jedem Gebrauch mit einer speziellen Reinigungsflüssigkeit gesäubert.

Limitierende Faktoren dieser neuen Technik sind eine maximale Eindringtiefe des polarisierten Lichts von 0,5-1 mm in Haut und Schleimhaut, Druckartefakte mit Beeinflussung des Blutflusses und Bewegungsartefakte, welche die Auswertung der Daten erschweren.

Wenn man die Sonde mit zu hohem Druck auf die Mundschleimhaut aufsetzt, kommt es zu einer Verlangsamung der Erythrozyten- Fließgeschwindigkeit bis hin zur Blutstase. Auch die Zirkulation in den Kapillaren wird behindert. Durch Wegnahme des Sondendrucks kann man dieses Problem reduzieren¹⁴.

Bei zu hohem Sondendruck kann es auch zu Verletzungen der Mundschleimhaut, d.h. Mikrohämatomen kommen. Sekrete wie Blut oder Speichel beeinträchtigen die Bildschärfe und führen zu Fehlmessungen, vor allem bei der Messung der erythrozytären Fließgeschwindigkeit. Diese Sekrete sollten durch Spülungen mit Natriumchloridlösung 0,9 % entfernt werden.

Aufgrund der limitierten Eindringtiefe des linear polarisierten Lichts von ca. 0,5 mm in der Mundschleimhaut, können präkapilläre Arteriolen, welche etwas tiefer im Gewebe liegen selten erkannt werden³⁰.

1.6 Fragestellung

Der Einsatz von OPS imaging während herzchirurgischer Eingriffe unter Anwendung der HLM könnte als diagnostisches Gerät frühzeitig hämodynamische Störungen mit Veränderung der Mikrozirkulation detektieren. Als Messort wurde die sublinguale Mundschleimhaut gewählt, da diese für den Anästhesisten intraoperativ einfach zugänglich ist und deren Blutversorgung mit der Perfusion innerer Organe korreliert¹⁰⁵. Um das Potential dieses Gerätes nach erfolgreicher Anwendung im Tiermodell auch in der klinischen Routine zu testen, wurde am Institut für Anästhesiologie des Klinikums Grosshadern an 32 Patienten eine klinische Studie durchgeführt, über die in dieser Arbeit berichtet werden soll^{30;32}. Es handelt sich um eine Observationsstudie, bei der die Anwendbarkeit und die Praktikabilität, sowie die Sicherheit und das diagnostische Potential von OPS imaging im Mittelpunkt unseres Interesses stand. In dieser klinischen Studie sollen folgende Fragestellungen untersucht werden:

1. Ist OPS imaging während herzchirurgischer Eingriffe sicher und leicht anwendbar ?
2. Können neben der Visualisierung der Mikrozirkulation auch quantitative Daten, wie die erythrozytäre Fließgeschwindigkeit und der Gefässdurchmesser postkapillärer Venolen, sowie die funktionelle Kapillardichte ermittelt werden ?
3. Lassen sich mit OPS imaging Mikrozirkulationsstörungen hervorgerufen durch HLM und Kreislaufstillstand nachweisen ? Besteht ein Zusammenhang mit den Parametern Leukozytenanzahl, Veränderungen der Adhäsionsmoleküle und Anzahl der aktivierten Leukozyten ?
4. Gibt es eine Korrelation zwischen der Dauer der extrakorporalen Zirkulation bzw. der Dauer des Kreislaufstillstands und den mikrozirkulatorischen Parametern ?
5. Kommt es zu Veränderungen der mikrozirkulatorischen Parameter in Abhängigkeit von der Hypothermie ?
6. Sind Veränderungen im Sinne eines Ischämie- Reperfusionsschadens oder SIRS als Folge der HLM mittels OPS imaging vorhersehbar ?

7. Welche Limitationen der Technik wurden in dieser Studie erkannt und welche Verbesserungen lassen sich für Folgestudien finden ?

2 Material und Methodik

2.1 Einverständniserklärung

Diese Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig- Maximilians- Universität München genehmigt. Nach einem ausführlichen Aufklärungsgespräch, in dem auch das Cytoscan- Gerät zur Aufzeichnung der sublingualen Mikrozirkulation vorgeführt wurde, unterschrieben die Patienten eine Einverständniserklärung, welche in **Anlage 1** dargestellt ist. Die Studie wurde gemäss den Grundsätzen des „Good clinical practise code“ (WHO) und der überarbeiteten „Deklaration von Helsinki“ durchgeführt.

2.2 Studiengruppe und Studienprotokoll

Die Studiengruppe umfasste 32 Patienten. Wir unterschieden zwischen der Gruppe von 27 Patienten mit koronarer Bypassoperation bzw. Herzklappenersatz ohne Kreislaufstillstand (Gruppe 1) und einer Gruppe aus 5 Patienten mit Operation im Kreislaufstillstand (Gruppe 2).

In Gruppe 1 unterzogen sich 17 Patienten einer koronaren Bypass- Operation, 4 Patienten erhielten sowohl eine Bypassoperation, als auch einen Aortenklappenersatz, 4 Patienten einen Aortenklappenersatz, 1 Patient einen Re- Aortenklappenersatz und 1 Patient einen Mitralklappenersatz. In Gruppe 2 erhielten 5 Patienten im Rahmen eines Aorta ascendens- Aortenbogen- Aneurysmas eine Gefässprothese unter Kreislaufstillstand.

Die Mikrozirkulation wurde nicht- invasiv an der Sublingualschleimhaut mittels CytoscanTM A/R visualisiert und zu 4 bzw. 5 verschiedenen Messzeitpunkten bestimmt:

T1= Messung sofort nach Narkosebeginn

T2= Messung in der frühen Phase der extrakorporalen Zirkulation, 30 Minuten nach Beginn der HLM

T3= Messung in der späten Phase der extrakorporalen Zirkulation, 30 Minuten vor Beendigung der HLM

T4= Messung 1 Stunde nach Reperfusion

T after CA= Messung in Gruppe 2 innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes (CA= cardiac arrest)

Zu jedem Messzeitpunkt wurden 2- 3 mal arterielle Blutgase entnommen und einmal venös Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten- und Leukozytenanzahl bestimmt. In einer Subpopulation von 8 Patienten aus Gruppe 1 wurden zusätzlich die Adhäsionsmoleküle CD 62 L und CD 18 untersucht.

Die ermittelten Daten wurden sowohl vom Anästhesisten auf dem Anästhesie Protokoll, als auch von uns auf einem Studienprotokoll dokumentiert.

2.3 Technische Aspekte von OPS imaging

Die orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung, auch OPSTM A/R imaging genannt, ist eine neue Methode für die nicht- invasive Visualisierung der Mikrozirkulation^{30;32}.

Im Gegensatz zur konventionellen Fluoreszenz- Mikroskopie braucht man keine Farbstoffe für die Kontrastverbesserung. Durch den Einsatz von speziellen Optiken werden „Durchlicht“ ähnliche Bilder in einem Auflichtverfahren erzeugt (siehe **Abbildung 2**, Vergleich der Gefäßdarstellung mittels IVM und OPSTM A/R imaging in der Hamsterrückenhautkammer).

2.3.1 Funktionsprinzip der OPS imaging Technik

Weißes Licht einer Lichtquelle wird gesammelt und durch einen Polarisator geschickt. Dieser Polarisator ist orthogonal zur Lichtquelle angeordnet und besteht aus einem Spektralfilter, welcher Licht einer bestimmten Wellenlänge (548 nm) isoliert und linear polarisiert. Das polarisierte Licht wird über die Scheibe eines halbdurchlässigen Spiegels (beam splitter) orthogonal (im 90° Winkel) auf das zu untersuchende Gewebe geworfen. Eine Objektivlinse fokussiert das Licht auf 1 mm im Durchmesser. Das zur Bildgebung beitragende remittierte Licht der Gewebeoberfläche wird dann von derselben Objektivlinse gesammelt und an eine „Charge Coupled Device“ (CCD) Videokamera (Costar CV-M536 CCIR, JAI, Tokyo, Japan) weitergeleitet.

Das auf das Gewebe fallende Licht wird z.T. an der Oberfläche reflektiert und z.T. im Gewebe gestreut und depolarisiert. Das an der Oberfläche reflektierte Licht trägt nicht zur Bildgebung bei und wird von einem zweiten Polarisator (Analysator), welcher im 90° Grad Winkel zum ersten Polarisator steht und sich vor der CCD- Kamera befindet, abgefiltert. Dieser Analysator eliminiert direkt reflektiertes Licht, da es seine Polarisation behält (siehe **Abbildung 3**, Funktionsprinzip der OPS imaging Technik).

Das Licht, das ins Gewebe eindringt (in die Sublingualschleimhaut etwa 0,5 mm Eindringtiefe) wird depolarisiert. Für diese Depolarisation muß das Licht im Gewebe mindestens 10 Mal gestreut werden. Dieses gestreute Licht formt eine virtuelle Lichtquelle tief im Gewebe und beleuchtet dieses wie bei der Transillumination.

Die ausgewählte Wellenlänge des Lichtes von 548 nm stellt einen Kompromiss dar zwischen maximaler Lichtabsorption des Hämoglobins bei 420 nm und optimaler

Lichteindringtiefe ins Gewebe bei 810 nm. Diese zwei Faktoren werden bei einer Wellenlänge des Lichts von 548 nm bei guter Kontrastgabe und Eindringtiefe berücksichtigt.

Das Prinzip von OPS imaging beruht auf der Lichtabsorption von Hämoglobin (Oxy- und Desoxyhämoglobin) zur Kontrastbildung. Blutgefäße müssen daher Erythrozyten enthalten, um sich vom umgebenden Gewebe abzuheben. Die Erythrozytenanzahl bestimmt den Kontrast und eine intraoperativ auftretende Hämodilution zeigt sich durch eine Kontrastabnahme¹⁵.

Das Cytoscan™ A/R besteht aus der OPS imaging Sonde (Cytometrics, Inc., Philadelphia, PA, USA) und einer externen Lichtquelle. Das Gerät ist mit einem x10 Objektiv ausgestattet und erreicht zusammen mit dem Bildschirm (PVM-1442 QM, diagonal 33 cm, Sony, München, Deutschland) eine 450- fache Vergrößerung^{5;6;53}. Die Auflösung liegt bei etwa 1µm/Pixel (siehe **Abbildung 4**, das Gerät Cytoscan™ A/R).

Zur Aufzeichnung der sublingualen Mikrozirkulationsbilder verwendeten wir zusätzlich einen PAL-Videorecorder (Panasonic, Video cassette Recorder AG-7350, Osaka, Japan) und einen Monitor (Sony PVM-97, Tokyo, Japan).

2.3.2 Mikrozirkulatorische Parameter

Als Messort wurde die sublinguale Mundschleimhaut benutzt, da diese für den Anästhesisten intraoperativ einfach zugänglich ist und deren Blutversorgung mit der Perfusion innerer Organe korreliert¹⁰⁵.

Die Messdauer betrug an den einzelnen Messzeitpunkten zwischen 15- 30 Minuten. Hierbei wurden sowohl Kapillaren (5 Kapillargebiete pro Messzeitpunkt), als auch postkapilläre Venolen (25 Gefäße pro Messzeitpunkt) visualisiert und ausgewertet.

Abbildung 5 zeigt ein typisches OPS imaging- Bild der sublingualen Mikrozirkulation. Man kann postkapilläre Venolen und Kapillaren sehen. Es erfolgte die Messung von Durchmesser und erythrozytärer Fließgeschwindigkeit in den postkapillären Venolen.

Handhabung der OPS imaging Sonde

Die OPS imaging Sonde, welche die Grösse eines Kugelschreibers aufweist, wurde während der Messung am Zungenrund positioniert. Dieser Ort wurde gewählt, weil die Eigenbewegungen der Zunge dort geringer sind, als an der Zungenunterfläche. Ein Verrutschen der Sonde, während der Messung ist seltener als im Bereich der Wangenschleimhaut, da die Sonde rechts und links des Frenulums gut positioniert werden kann. Auch sind in diesem Bereich postkapilläre Venolen und Kapillaren gut darstellbar.

Die Zungenoberfläche eignete sich nicht für unsere Messungen, weil im Bereich der Papillen nur Kapillaren zu sehen sind³⁰.

Wenn man die Sonde mit zu hohem Druck auf die Mundschleimhaut aufsetzt, kommt es zu einer Verlangsamung der Erythrozyten- Fliessgeschwindigkeit bis hin zur Blutstase, da durch den Sondendruck die Gefäße komprimiert und die Erythrozyten im Fluss behindert werden. Auch die Zirkulation in den Kapillaren und der Venolendurchmesser (Dia) werden beeinflusst. Durch Erfahrung im Umgang mit dem Gerät kann der Druck minimiert werden bzw. druckbedingte Artefakte erkannt werden¹⁴.

Die Parameter wurden off- line von auf Videokassette (S-VHS-Videokassetten, FUJI MAGNETICS GmbH, Kleve, Deutschland) aufgezeichneten Bildsequenzen der sublingualen Mikrozirkulation unter Benutzung des Videobildanalysesystems Cap Image ausgewertet⁵¹.

Mittels Cytoscan™ A/R können Bilder der Mikrozirkulation erstellt werden, aus welchen folgende Parameter ermittelt werden können:

die Erythrozyten- Fliessgeschwindigkeit (Vel)

der Gefäßdurchmesser (Dia)

die Funktionelle Kapillardichte (FCD)

Leukozyten: Rollen und Adhäsion

Erythrozyten- Fliessgeschwindigkeit (Vel)

Diese ist definiert als die Geschwindigkeit, mit der die Erythrozyten das Gefäß durchfließen. Die Fliessgeschwindigkeit des Blutes zeigt eine parabolische Verteilung. Der zentrale Gefäßstrom weist höhere Fliessgeschwindigkeiten auf, als endothelnah⁹³. Um hier Fehlerquellen zu vermeiden wurde die Fliessgeschwindigkeit zentral im Gefäß gemessen und der Mittelwert in mm/sec berechnet.

Wir ermittelten die erythrozytäre Fliessgeschwindigkeit in den postkapillären Venolen, da diese in der sublingualen Messung mit OPS imaging gut darstellbar waren. Arteriolen konnten nur vereinzelt visualisiert werden, weil sie in der Mundschleimhaut in tieferen Gewebeschichten liegen. Zudem können mit dem Videobildanalysesystem Cap Image nur Fliessgeschwindigkeiten bis 1,5 mm/sec gemessen werden. Diese technische Limitation erlaubt Messungen von Fliessgeschwindigkeit in den postkapillären Venolen und nicht in Arteriolen, weil unter physiologischen Konditionen die Fliessgeschwindigkeiten der Arteriolen höher liegen, als 1,5 mm/sec^{32;58;61}.

Gefäßdurchmesser (Dia)

Der Gefäßdurchmesser ist definiert als der Abstand zwischen den zwei gefäßbegrenzenden Endothelwänden. Wir bestimmten den Gefäßdurchmesser in den postkapillären Venolen, weil Arteriolen an der Mundschleimhaut kaum darstellbar sind und Gefäßdurchmesser kleiner 10 μm , wie in Kapillaren, zu hohe Messungenauigkeiten aufweisen^{30;32}.

Funktionelle Kapillardichte (FCD)

Die FCD ist definiert als die Länge Erythrozyten- perfundierter Kapillaren pro Beobachtungsareal und wird in cm/cm^2 angegeben⁷⁵.

Leukozyten

Rollende Leukozyten (rolling leukocytes) sind definiert als Zellen, welche intermittierend mit dem Gefäßendothelium interagieren. Diese können in den postkapillären Venolen leicht erkannt werden, da sie im Gefäß langsamer als der Erythrozytenstrom fließen³².

Rollende Leukozyten exprimieren an ihrer Zelloberfläche L- Selektine, wie z.B. CD 62L, welches von uns im FACScan bestimmt wurde. Die L- Selektine binden ähnlich wie ein Zahnrad an die entsprechenden Liganden am Gefäßendothelium. Diese sind noch nicht vollständig identifiziert, es handelt sich aber vorwiegend um sialysierte, fukosylierte und sulfatierte Glykoproteine und Glykolipide⁹³.

Adhärenente Leukozyten (adherent leukocytes) sind definiert als Zellen, welche mit derselben Stelle am Gefäßendothel für mindestens 30 Sekunden konstant verbunden bleiben⁴.

Die Adhärenz ist eine Zwischenstufe in der Auswanderung polymorphkerniger neutrophiler Leukozyten aus dem Intravasalraum ins Gewebe. Im Mehrstufenmodell bewirkt das Rollen der PMNL entlang der Gefäßwand eine Abnahme der erythrozytären Fließgeschwindigkeit und damit eine Aktivierung dieser, mit Folge der Ausbildung einer gegenüber den Scherkräften des Blutes stabilen Adhäsion der PMNL an die Gefäßwand⁹³ (siehe **Abbildung 6**: Darstellung rollender und adhärenenter Leukozyten).

2.4 Auswertung mittels Videobildanalyzesystem Cap Image®

Wir benutzten zur Auswertung der sublingualen Mikrozirkulationsbilder das Videobildanalyzesystem Cap Image^{9;51;107}.

2.4.1 Hardware- Konfiguration

Cap Image besteht aus einem IBM- kompatiblen PC, einem Videorecorder als Videoquelle und einem Farbmonitor, der die zu bearbeitenden Videobilder anzeigt. Die Videobilder werden in Echtzeit digitalisiert und mittels Tastatur und Mouse des PC's bearbeitet.

2.4.2 Software- Konfiguration

Erythrozyten- Fliessgeschwindigkeit in den postkapillären Venolen (Vel)

Die Erythrozyten- Fliessgeschwindigkeit kann durch verschiedene Verfahren ermittelt werden, wie der Frame- to- Frame- Methode oder der Spatial- Korrelation- Methode. Bei der Frame- to- Frame- Methode werden die mit dem Auge erkennbaren Bewegungen von Bild zu Bild (frame to frame) mit der Mouse markiert. Aus dem mit der Mouse gezogenen Weg und dem Bildintervall wird automatisch die Geschwindigkeit berechnet. Bei der Spatial-Korrelation- Methode wird innerhalb des Blutgefäßes die räumliche Verschiebung des Grauwertprofils durch Korrelationsberechnung ermittelt^{9;51;107}.

Wir wendeten die Line Shift Diagramm Methode an. Hierzu sollte eine etwa 10 Sekunden lange, an Bewegungsartefakten arme Bildsequenz ausgewählt werden. Mit der Mouse können eine oder mehrere gerade oder beliebig gekrümmte Messlinien entlang des Blutgefäßes gezogen werden. Diese Messlinien können innerhalb des Gefäßes oder gefäßnah liegen, da sich durch die Eigenbewegungen des Bildes die Linien verschieben (**Abbildung 7:** Messung der erythrozytären Fliessgeschwindigkeit in postkapillären Venolen mittels Cap Image). Während der Messung werden die Grauwertdaten entlang der Messlinie gelesen und im Bildspeicher als vertikale Linien nebeneinander aufgezeichnet. Dabei ist die Messung umso genauer, je länger die Messlinie ist³². Bewegt sich während der Messsequenz eine helle Plasmalücke entlang der Messlinie, so wird die Fortbewegung im Diagramm als helle, schräg verlaufende Linie sichtbar. Erythrozyten hingegen werden als dunkle Linien abgebildet. Dies wird als Line Shift Diagramm bezeichnet (**Abbildung 8:** Darstellung eines Line Shift Diagramms). Durch Anklicken dieser schrägen Linien wird automatisch deren Steigung ermittelt (die Y- Achse repräsentiert die Distanz entlang der Linie und die X- Achse entspricht der Zeit) und daraus die Geschwindigkeit in mm/sec berechnet. Die Maximalgeschwindigkeit, welche mit Cap Image gemessen werden kann, liegt bei etwa 1,5 mm/sec. Eine hohe Messgenauigkeit kann aufgrund der Limitation durch die Frame- Rate des S- VHS Videorecorders ab 1,5 mm/sec nicht mehr erreicht werden^{32;58;61}.

Gefäßdurchmesser der postkapillären Venolen (Dia)

In der Bildsequenz werden postkapilläre Venolen ausgewählt und per Mausklick eine perpendikulare Linie zwischen den zwei gefäßbegrenzenden Endothelwänden gezogen. Cap Image kalkuliert die Länge dieser Linie, welche dem Durchmesser der Venole in μm entspricht (**Abbildung 9**: Messung des postkapillären Gefäßdurchmessers mittels Cap Image). Der Vorgang wurde dreimal wiederholt und der Mittelwert genommen.

Funktionelle Kapillardichte (FCD)

In einem vordefinierten Fenster werden die perfundierten Kapillaren am Standbild mit der Mouse nachgezeichnet. Die Gesamtlänge der nachgezeichneten Kapillaren dividiert durch die ausgewählte Fensterfläche, ergibt die funktionelle Kapillardichte in cm/cm^2 ³² (**Abbildung 10**: Messung der FCD mittels Cap Image). Das Bild muss dabei immer wieder abgespult werden, um in Echt- Zeit die Kapillarperfusion zu kontrollieren, da die FCD als die Länge der Erythrozyten- perfundierten Kapillaren pro Beobachtungsareal definiert ist. So kann man die Gefahr einer Fehlmessung im Sinne nicht- perfundierter Kapillaren reduzieren.

Leukozyten: Rollen und Adhärenz

Die Anzahl der rollenden und adhärenenten Leukozyten wurde nicht mittels Cap Image berechnet. Wir benutzten einen hochauflösenden Monitor von Sony (Trinitron® Color Video Monitor PVM-20M2MDE, Sony, Tokyo, Japan), dividierten den Bildschirm mit einer Fläche von 29 cm Höhe \times 39 cm Breite in 9 Fenster (1 Fenster=13 cm \times 10 cm) und benutzten als Videoquelle einen Videorecorder (Panasonic, Video cassette Recorder AG-7350, Osaka, Japan). Jedes einzelne dieser 9 Bildschirmfenster entsprach einem Ausschnitt der sublingualen Mikrozirkulation von ca. $0,11 \text{ mm}^2$ (ca. $0,33 \times 0,33 \text{ mm}$). In jedem Fenster wurden die Anzahl der Venolen und Kapillaren gezählt und per Hand die rollenden und adhärenenten Leukozyten, welche in 30 Sekunden bis eine Minute visualisierbar waren, gezählt. Diese Methode wurde zu den 4 Messzeitpunkten bei insgesamt 8 Patienten angewendet. Wir korrelierten diese Werte mit der Anzahl der leukozytären Adhäsionsmoleküle CD 62 L und CD 18 im venösen Blut, welche mittels FACScan erhoben wurden¹⁵.

2.5 Narkose und Patientenmonitoring

Die Patienten erhielten am Abend vor der Operation und eine Stunde präoperativ eine orale Prämedikation mit einem Benzodiazepin, 2 mg Lormetazepam abends und 7,5 mg Midazolam eine Stunde präoperativ. Eine Dauermedikation mit herzkreislaufwirksamen

Medikamenten, wie Betablocker, Calciumantagonisten, Nitraten usw. erhielten die Patienten in gewohnter Dosierung bis zum Morgen des Operationstages.

Die Operation wurde bei allen Patienten in Allgemeinanästhesie durchgeführt. Vor Narkoseeinleitung wurde ein 5-Kanal-EKG (Ableitung 2) mit ST-Segmentanalyse, eine automatische Blutdruckmessung am Arm, eine peripher-venöse Kanüle und eine 20-gauge Kanüle in die Arteria femoralis zur kontinuierlichen invasiven arteriellen Blutdruckmessung gelegt. Es erfolgte eine kontinuierliche Messung der Sauerstoffsättigung mittels Pulsoxymetrie. Anschließend wurde die Narkose mit Sufentanyl 100 µg als Bolus, gefolgt von einer kontinuierlicher Infusion von 50- 100 µg/h (Janssen, Neuss, Deutschland) und Etomidate (0,3 mg/kg, Braun, Melsungen, Deutschland) eingeleitet. Zur Muskelrelaxation verwendeten wir 8 mg Pancuroniumbromid (Curamed Pharma GmbH, Karlsruhe, Deutschland). Die Patienten wurden volumenkontrolliert mit einem Servo Ventilator 900C (Siemens- Elema, Schweden) beatmet. Die Narkose wurde mit 100 % Sauerstoff, Isoflurane 0,6- 0,8 Vol % und durch kontinuierliche Infusion von 50- 100 µg Sufentanyl aufrecht erhalten. Nach Narkoseeinleitung und Intubation erhielten alle Patienten einen zweilumigen, zentralvenösen Katheter in Seldinger Technik in die rechte Vena jugularis interna. Zusätzlich wurde eine 8,5 French Schleuse in die Vena jugularis interna zur Einführung eines Pulmonaliseinschwemmkatheter angelegt. Alle Patienten erhielten neben einer Magensonde auch einen Blasendauerkatheter und eine orale und rektale Temperaturmesssonde. Regelmässig wurden arterielle und gemischtvenöse Blutgasanalysen und venöse Blutentnahmen durchgeführt. Während der Operation und des postoperativen Intensivaufenthaltes legte der nicht an der Studie beteiligte, verantwortliche Anästhesist die routinemässig verwendeten Medikamente bezüglich Art, Menge und Dauer fest. Die Narkoseführung bei herzchirurgischen Eingriffen erfordert bezogen auf die extrakorporale Zirkulation und den totalen Kreislaufstillstand eine Reihe von speziellen protektiven Massnahmen.

2.5.1 Die extrakorporale Zirkulation

Zahlreiche Herzoperationen können nur am nicht schlagenden Herzen unter Ausschaltung von Herz und Lunge durchgeführt werden. Ihre Funktion kann von einer Herz- Lungen-Maschine (HLM) in extrakorporaler Zirkulation übernommen werden. Hierbei wird venöses Blut aus den beiden Hohlvenen nach Anreicherung mit Sauerstoff und Elimination von CO₂ in den arteriellen Kreislauf des Patienten über die Aorta oder A. femoralis

zurückgepumpt. In dieser Studie wurden die Patienten im Herz- Lungen- Bypass (HMT, Fürstenfeldbruck, Deutschland) unter Benutzung eines Membranoxygenators (Medtronic, Düsseldorf, Deutschland) operiert.

Durch die extrakorporale Zirkulation kommt es sowohl materialabhängig als auch materialunabhängig zu Veränderungen der Makro- und Mikrozirkulation. Materialabhängige Faktoren, wie die Exposition des Blutes an die unphysiologische Oberflächenstruktur des HLM- Systems, erfordern die Heparinisierung des Blutes. Alle Patienten erhielten vor Kanülierung der Hohlvenen 400 I.E./kg Heparin i.v. um die Blutgerinnung für die extrakorporale Zirkulation aufzuheben. Dies wird mittels Bestimmung der ACT- Zeit (activated clotting time), deren Zielwert grösser 450 sec. beträgt, gesichert. Mikrozirkulatorische Veränderungen treten auch durch die Umwandlung des pulsatilen Fluss des Herzens in einen durch die HLM produzierten nicht- pulsatilen, kontinuierlichen Fluss auf. Nach erfolgter Kanülierung beginnt die extrakorporale Zirkulation. Zunächst wird die Körpertemperatur des Patienten mittels Wärmeaustauscher auf 28 - 32 °C abgekühlt, um den Sauerstoffbedarf des Gewebes zu vermindern.

Danach erfolgt die Abklemmung der Aorta (clamping) und die Infusion von ca. 1,5-3 Liter kalter Kardioplegie- Lösung über die Aortenwurzel in den Koronarkreislauf, um eine Myokardprotektion zu erreichen. Zudem wird das Herz mit kalter Elektrolytlösung übergossen. Als Kardioplegielösung wurden zwei unterschiedliche Substanzen verwendet. Die HTK- Lösung nach Bretschneider (Köhler Chemie, Alsbach, Deutschland) enthält Na^+ 15,0 mmol, K^+ 9,0 mmol, Ca^{2+} 0,015 mmol, Mg^{2+} 4,0 mmol, Histidin 180,0 mmol, Mannitol 30,0 mmol, Tryptophan 2,0 mmol. Die Blutkardioplegie (Buckberg/Beyersdorf, Köhler Chemie, Alsbach, Deutschland) wird durch Mischung von Blut aus der HLM mit einer kristalloiden kardioplegischen Lösung im Verhältnis 4:1 (Blut:Lösung) hergestellt. Beide Lösungen dienen der Organprotektion und Oberflächenkühlung des Herzens.

Das Vorfüllvolumen für die Herz- Lungen- Maschine betrug zwischen 1,6 - 2,5 l und enthielt 800-1100 ml Voll- Elektrolytlösung (Na^+ 140 mmol, K^+ 5 mmol, Ca^{2+} 2,5 mmol, Mg^{2+} 1,5 mmol, Cl^- 153 mmol), 500 ml Hydroxylethylstärke 6%, Mannitol 20 % 3 ml/kg Körpergewicht und ggf. Natriumbikarbonat (NaHCO_3) 8,4 % und Aprotinin (Trasylol®). Die dadurch erzielte Hämodilution, d.h. eine Reduktion der Hämoglobinkonzentration (Hb) im Blut vermindert die Viskosität des Blutes und verbessert damit die Perfusion der Organe, was besonders während der Hypothermie eine Rolle spielt⁵⁶.

Das Perfusionsvolumen der HLM wurde mit 2,2 - 2,5 l/min/m² Körperoberfläche berechnet und ein nicht- pulsatiler Fluss mit einem mittleren arteriellen Druck von 60 - 70

mmHg erreicht. Sank der mittlere arterielle Druck unter 50 mmHg wurde eine Bolusinjektion von 50 µg Norepinephrin über die HLM verabreicht.

Die Abklemmung der Aorta (clamping) und speziell die Wiedereröffnung (declamping) führen ebenso zu hämodynamischen Alterationen. Nach Öffnen der Aortenklemme erhielt jeder Patient 6 mmol Magnesium, um die Inzidenz supraventrikulärer und ventrikulärer Arrhythmien zu vermindern und um die postischämische Pumpfunktion des Herzens zu verbessern⁶⁹.

Vor dem Abgehen vom kardiopulmonalen Bypass wird die Rektaltemperatur mittels Wärmeaustauscher auf über 35°C angehoben. Blutgase, Säure- Basen- Haushalt und Serumelektrolyte müssen im Normbereich liegen. Beginnt das Herz nach dem Aufwärmen nicht spontan zu entflimmern, wird es mit 10 - 50 Joule intern defibrilliert. Nach der Entlüftung von Herzkammern, Aortenwurzel und Koronartransplantaten wird mit der Entwöhnung vom kardiopulmonalen Bypass begonnen. Der Patient wird mit 100 % Sauerstoff beatmet und sobald die Kanülen aus den Gefäßen entfernt sind, wird die Blutgerinnung durch Infusion von Protamin wieder hergestellt, wobei 1 ml Protamin 1000 IE Heparin neutralisiert.

2.5.2 Der totale Kreislaufstillstand

Eingriffe, wie Operationen von Aneurysmen des Aortenbogens werden in tiefer Hypothermie und im Kreislaufstillstand operiert, da ein kanülenfreies, blutleeres Operationsfeld benötigt wird. Von tiefer Hypothermie spricht man, wenn eine Körpertemperatur von 28 - 16°C erreicht wird. Nach Anschluss an die HLM wird die Körpertemperatur über den Wärmeaustauscher der HLM abgekühlt. Zusätzlich wird der Kopf des Patienten lokal mittels Eis geschützt, um postoperative zerebrale Komplikationen zu vermeiden.

Da es zur Unterbrechung der gesamten Blutversorgung kommt, erwarteten wir durch Ischämie und Reperfusion bedingte Veränderungen der Mikrozirkulation.

2.6 Untersuchungen

2.6.1 Hämodynamik

An den 4 bzw. 5 verschiedenen Messzeitpunkten wurden jeweils die folgenden Parameter mittels Sirecust 3000 (Siemens, München, Deutschland) ermittelt:

Herzfrequenz (HF) und Herzrhythmus

Systolischer und diastolischer arterieller Blutdruck

Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)

Zentraler Venendruck (ZVD)

Pulmonalarterieller systolischer, diastolischer Druck und Wedgedruck (PCWP)

Mittlerer pulmonalarterieller Druck (MPAP)

Herzzeitvolumen (HZV) und Herzindex (HI)

Systemischer Gefäßwiderstand (SVR) und pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstand (PVR)

Sauerstoffangebotsindex (DO₂I).

Die kontinuierliche Überwachung der Herz- Kreislauf- Funktion ist für den Patienten während der Narkose von grundlegender Bedeutung. Die Herzfrequenz wurde aus den R-Zacken des EKG's ermittelt. Die intraarterielle Druckmessung in der Arteria femoralis rechts ermöglichte die Messung von systolischem und diastolischem arteriellen Blutdruck. Der ZVD wurde über einen zentralen Venenkatheter in der Vena jugularis interna rechts gemessen. Mit dem Pulmonalarterienkatheter (Swan- Ganz- Katheter) wurden die Pulmonalarteriendrucke und indirekt PCWP, sowie das HZV gemessen. Dieses wurde nach Mittelung von drei Messungen nach dem Thermodilutionsverfahren bestimmt. Dabei wurde nach rascher Injektion von 10 ml Kochsalzlösung in das proximale Lumen des Pulmonalkatheters das HZV aus der Veränderung der Bluttemperatur in seinem zeitlichen Verlauf am Thermistor an der Spitze des Katheters gemessen. Der Computer ermittelte den Blutfluss aus der Fläche unter der Temperaturkurve nach der Stewart-Hamilton- Gleichung. Es wurde auch der Herzindex errechnet.

Aus den ermittelten Werten wurden die folgenden Parameter nach Formel berechnet⁸⁵:

arterieller O₂-Gehalt = CaO₂

SVR (dyn sec cm⁻⁵)= [79,92 (MAP-ZVD): HZV]

PVR (dyn sec cm⁻⁵)= [79,92 (MPAP-PCWP): HZV]

DO₂I (l min⁻¹ m⁻²)= (CaO₂ x CI x 10)

2.6.2 Blutproben

Zentralvenöses Blut wurde zu allen Messzeitpunkten für die laborchemische Untersuchung (Coulter Counter, STKS, Souten Electronics, Luton, UK) folgender Parameter entnommen:

Erythrozytenkonzentration (Ery)

Hämoglobinkonzentration (Hb)

Hämatokrit (Hk)

Leukozytenkonzentration

2.6.3 Flüssigkeitsbilanz

Perioperativ wurde anhand der Urinausscheidung, der Hemofiltration, des Restfüllvolumens des HLM-Systems und der Flüssigkeitssubstitution die Volumenbilanz ermittelt. Der intraoperative Blutverlust und die Menge des Cellsaverblutes wurden in den Unterlagen leider nicht vermerkt, sodass diese nicht in die Volumenbilanz mit eingerechnet werden konnten. Die Gabe von Kristalloiden, Kolloiden, Erythrozyten-, Thrombozyten- und Frischplasmakonzentraten, sowie von Priming- und Kardioplegie-Lösung wurden im Anästhesieprotokoll bzw. HLM-Protokoll dokumentiert.

Die kardioplegische Lösung wurde bei der Flüssigkeitsbilanz in Gruppe 1 und Gruppe 2 vollständig eingerechnet. Die Menge, der tatsächlich in den Gesamtkreislauf gelangten Kardioplegie-Lösung ist variabel und von verschiedenen Faktoren abhängig: von der Kanülierungsart (Einfachkanülierung: Drainage des rechten Vorhofes; Doppelkanülierung: Kanülierung der oberen und unteren Hohlvene), von der Art der Operations-Sauger (Cellsaver-Sauger oder HLM-Sauger) und von einer evtl. Vorhoferöffnung. Zudem unterliegt die Wahl der Menge der Kardioplegie-Lösung (1,5-3 l) und die Art der Kardioplegie-Lösung (Blutkardioplegie-Lösung oder HTK-Lösung nach Bretschneider) der individuellen Handhabung des Herzchirurgen.

Bei einer Doppelkanülierung und Eröffnung des rechten Vorhofs kann nahezu die gesamte Kardioplegielösung abgesaugt werden. Dadurch gelangt eine geringe Menge in den Gesamtkreislauf. Bei Einfachkanülierung kann die gesamte Kardioplegielösung aus dem Koronarsinus in die venöse Kanüle und damit in den Gesamtkreislauf gelangen.

Das am Ende der Operation in der Herz-Lungen-Maschine verbleibende Volumen besteht v.a. aus Kristalloiden um den Blutverlust des Patienten zu minimieren. Dieses Restvolumen wurde in der Bilanz berücksichtigt.

2.6.4 Blutgasanalyse

Zur arteriellen Blutgasanalyse wurde Blut aus der Kanüle der A. femoralis entnommen. Aus dem Pulmonalkatheter konnte gemischt-venöses Blut entnommen werden. Folgende Parameter wurden bestimmt und dokumentiert (ABL 300, Fa. Radiometer, Kopenhagen, Dänemark):

Arterieller pH-Wert (pH)

Arterieller Sauerstoffpartialdruck (P_aO_2)

Arterieller Kohlendioxidpartialdruck ($P_a\text{CO}_2$)

Arterielle Sauerstoffsättigung (SO_2)

Standardbikarbonat (SHCO_3^-)

Standard Basenüberschuss (BE)

Gemischtvenöse Sauerstoffsättigung (Sat_vO_2)

Gemischtvenöse Sauerstoffpartialdruck ($P_v\text{O}_2$)

2.6.5 Bestimmung der Adhäsionsmoleküle mittels FACScan

In einer Subpopulation von 8 Patienten wurden zu den 4 Messzeitpunkten zusätzlich die leukozytären Adhäsionsmoleküle CD 62 L und CD 18 im venösen Blut bestimmt, welche für das Rollen am bzw. die Adhäsion an das Gefäßendothel und die Emigration polymorphkerniger neutrophiler Leukozyten aus dem Gefäßbett exprimiert werden⁹³.

Es wurden hierbei jeweils 2 ml Vollblut in einer eisgekühlten, heparinisierten Spritze (0,2 ml Vetren, Promonta GmbH, Hamburg, Deutschland) entnommen. Bei der Blutentnahme war auf eine sorgfältige Durchmischung des Blutes mit Heparin zu achten, wobei die Heparin- Restkonzentration etwa 10 U/ml betrug. Die Spritzen wurden mittels Kappe dicht verschlossen und bis zur Adhäsionsmolekülbestimmung, welche innerhalb von 6 Stunden erfolgte, in Eiswasser aufbewahrt.

Im Labor wurde das Patientenblut zweimal mit gekühlter (etwa 4°C), isotoner, gepufferter Hank'schen Salzlösung (HBSS, pH 7,4, produziert in der hauseigenen Apotheke) gewaschen, um proteinhaltiges Plasma vollständig zu entfernen. Die Proben wurden während dieses Vorgangs weiter eisgekühlt (Zentrifugation bei 4°C für 5 Minuten bei 3000 Umdrehungen, Heraeus Sepatech Zentrifuge, Varifuge 3,0 R, 20 cm Radius, 5000 rpm).

Danach wurden die gewaschenen korpuskulären Bestandteile in HBSS auf das ursprüngliche Blutvolumen resuspendiert. Aus dieser Zellsuspension wurden 20 µg in speziellen FACS- Küvetten mit 20 µg FITC- markierten monoklonalen Antikörpern IB 4 (IgG 2a) und Dreg 200 (IgG 2a) inkubiert, (0°C, 20 Minuten) um die spezifische Bindung von IB 4 an das β_2 - Integrin CD 18 und Dreg 200 an das L- Selektin CD 62L zu ermöglichen.

Nachfolgend wurde 750 µg Ficoll- Lyse- Reagenz (FACS Lysing Solution, Becton Dickinson, San Jose, USA) den Küvetten zugegeben und für 40 Minuten auf Eis inkubiert, um eine Lyse der Erythrozyten zu bewirken. Im letzten Schritt wurde zweimal mit HBSS gewaschen und die Antikörper- markierten Leukozyten im Durchflusszytometer Becton

Dickinson FACScan analysiert (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland). Die Ergebnisse werden in der Einheit rFIU (relative fluorescence unit) angegeben.

Zeitgleich wurde die Leukozytenpopulation im Blut definiert und ihre Konzentration berechnet, um Rückschlüsse auf den prozentualen Anteil der aktivierten Granulozyten zu den verschiedenen Messzeitpunkten zu erhalten (Coulter Counter, STKS, Souten Electronics, Luton, UK).

2.7 Statistik

Wir unterschieden zwischen Patienten mit Eingriffen ohne Kreislaufstillstand (Gruppe 1) und Operationen im Kreislaufstillstand (Gruppe 2). Es wurden zu 4 bzw. 5 Messzeitpunkten Daten erhoben. Für alle Daten wurde der Mittelwert und der Standardfehler des Mittelwertes berechnet. Die statistische Analyse erfolgte mittels „Sigma Stat“ (Jandel Scientific, Erkrath, Deutschland). Signifikante Unterschiede wurden bei $p < 0,05$ angenommen. Bei Normalverteilung der Werte wurde One way Analysis of Variance (ANOVA) als Testverfahren eingesetzt, da 4 bzw. 5 Messzeitpunkte verglichen wurden. Bei signifikanten Unterschieden wurde der Tukey- Test als weiteres Testverfahren benutzt.

Bei fehlender Normalverteilung der Werte oder ungleicher Varianz wurde Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks eingesetzt. In Folge wurden statistisch signifikante Unterschiede in den verschiedenen Gruppen mittels Dunn´s- Testverfahren für Vergleiche gegen die Gruppe T1 (Ausgangswerte zu Narkosebeginn) erkannt.

Bei Vergleichen zwischen den Gruppen 1 und 2 wurden der t- Test bei Normalverteilung und der Mann- Whitney Rank Sum Test bei fehlender Normalverteilung eingesetzt.

3 Ergebnisse

3.1 Perioperativer Verlauf und Komplikationen

		Gruppe 1 n=27	Gruppe 2 n=5
Geschlecht männlich	n	21	3
weiblich	n	6	2
Alter	Jahre	65,1 ± 9,6	69,4 ± 7,7
Körpergrösse	cm	170,5 ± 8,3	176,0 ± 4,7
Körpergewicht	kg	80,2 ± 11,9	78,0 ± 10,6
Operation: -Koronare Bypassoperation (CABG) -Mitralklappenersatz (MKE) -Aortenklappenersatz (AKE) -Re-AKE -AKE + CABG -Aorta ascendens-Ersatz unter Kreislaufstillstand + AKE -Aorta ascendens-Ersatz unter Kreislaufstillstand + CABG -Aorta ascendens-Aortenbogen- Aorta descendens-Ersatz unter Kreislaufstillstand	n	17 1 4 1 4	3 1 1
CPB-Zeit (Zeit an der HLM)	min	125,7 ± 40,0	184,8 ± 48,7*
Stillstand-Zeit	min	- -	29,8 ± 34,9*
Clamping-Zeit	min	75,8 ± 21,0	119,0 ± 49,2*

Tabelle 1: Demographische Daten und operative Zeitangaben der 2 Patientengruppen mit Eingriffen ohne Kreislaufstillstand (Gruppe 1) und mit Eingriffen im Kreislaufstillstand (Gruppe 2). Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung (CPB-Zeit *p=0,014, Clamping- Zeit *p=0,008)

Die Studiengruppe umfasste 32 Patienten (siehe **Tabelle 1**). Wir unterschieden zwischen der Gruppe von 27 Patienten mit koronarer Bypassoperation bzw. Herzklappenersatz ohne Kreislaufstillstand (Gruppe 1) und einer Gruppe aus 5 Patienten mit Operation im Kreislaufstillstand (Gruppe 2). Alle 32 Patienten überlebten ihren kardiochirurgischen Eingriff. Die Subpopulation der 5 Patienten mit Kreislaufstillstand war älter

(Durchschnittsalter $69,4 \pm 7,7$ Jahre) als die Patienten der Gruppe 1 ($65,1 \pm 9,6$ Jahre). Die Dauer der extrakorporalen Zirkulation (CPB- Zeit) betrug in der Gruppe 2 $184,8 \pm 48,7$ Minuten und die Clampingzeit (Zeit während die Aorta abgeklemmt ist) $119,0 \pm 49,2$ Minuten. Die Stillstandzeit lag bei $29,8 \pm 34,9$ Minuten. Sowohl die CPB- Zeit, als auch die Clamping- Zeit waren somit in der Gruppe 2 im Vergleich zur Gruppe 1 signifikant höher.

		Gruppe 1 n=27	Gruppe 2 n=5
Dauer des Gesamt-Krankenhausaufenthalts	Tage	$18,3 \pm 8,4$	$19,4 \pm 8,5$
Intensivaufenthalt	Tage	$2,8 \pm 3,7$	$6,2 \pm 8,1$
Postoperativer Krankenhausaufenthalt	Tage	$10,6 \pm 4,3$	$16,2 \pm 4,5$
Intubationsdauer	Tage	$1,5 \pm 2,2$	$5,6 \pm 8,6$

Tabelle 2: Prä- und postoperative Zeitangaben der 2 Patientengruppen mit Eingriffen ohne Kreislaufstillstand (Gruppe 1) und mit Eingriffen im Kreislaufstillstand (Gruppe 2). Angaben in Mittelwerten \pm Standardabweichung.

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den prä- und postoperativen Liegezeiten, Dauer der Intubation und Dauer des Intensivaufenthalts in den zwei Vergleichsgruppen (siehe **Tabelle 2**). In Gruppe 1 wurden 3 Patienten in eine andere Klinik verlegt, alle anderen Patienten konnten nach $18,3 \pm 8,4$ Tage nach Hause entlassen werden. In Gruppe 2 wurden 2 Patienten in ein anderes Krankenhaus verlegt, die restlichen 3 Patienten konnten nach $19,4 \pm 8,5$ Tagen nach Hause gehen.

3.2 Anwendung von OPS imaging

OPS imaging konnte bei allen Patienten angewandt werden. Bei 4 Patienten wurden während den sublingualen Messungen Hämatome oder Blutungen an der Mundschleimhaut festgestellt, welche komplikationslos abheilten. Die Qualität der Messungen konnte durch Spülungen mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung verbessert werden, was bei ca. 10 % der Patienten notwendig war.

3.3 Hämodynamische Veränderungen

Die hämodynamischen Parameter werden in Tabelle 3, 4 und 5 dargestellt. Die Herzfrequenz der Patienten wurde während der Messzeitpunkte im 5- Minutenintervall dokumentiert (**Tabelle 3 und 4**). Zum Messzeitpunkt T1 wurden physiologische Ausgangswerte ermittelt, welche erst eine Stunde nach Reperfusion (T4) signifikant in beiden Gruppen verglichen zu T1 erhöht waren. Als Zielwert für die Herzfrequenz wurde nach HLM eine Frequenz von 90- 100 Schlägen/Min angestrebt. Dies konnte durch Verabreichung von Katecholaminen oder durch eine Stimulation mittels epikardialer Schrittmachersonde erreicht werden.

Während der extrakorporalen Zirkulation (T2 und T3) wurden durch den nicht- pulsatilem Fluss der HLM mittlere Blutdruckwerte von 60- 80 mmHg angestrebt. Diese wurden in Gruppe 1 erreicht, währenddessen in Gruppe 2 ein signifikanter Abfall auf $52,9 \pm 5,6$ mmHg in T2 beobachtet werden konnte. Durch medikamentöse Therapie und Volumengabe konnte in beiden Gruppen eine Normalisierung des mittleren arteriellen Blutdrucks in T4 erreicht werden. Ein signifikanter ZVD- Anstieg konnte nur in Gruppe 1 in T4 ermittelt werden ($10,6 \pm 4,6$ mmHg).

Hämodynamische Parameter (n= 27 Pat)		T 1	T 2	T 3	T 4
Herzfrequenz	Schläge/min	$69,7 \pm 15,3$	-	-	$97,3 \pm 14,6^*$
Systolischer Blutdruck	mmHg	$113,1 \pm 14,2$	-	-	$111,7 \pm 11,5$
Diastolischer Blutdruck	mmHg	$54,8 \pm 10,6$	-	-	$49,5 \pm 8,2$
Mittlerer Arterieller Druck (MAP)	mmHg	$74,5 \pm 10,9$	$61,6 \pm 12,3^*$	$61,2 \pm 12,5^*$	$70,2 \pm 8,3$
Zentraler Venendruck	mmHg	$6,6 \pm 3,6$	$5,6 \pm 4,6$	$4,8 \pm 3,6$	$10,6 \pm 4,6^*$

Tabelle 3: Intraoperativer Verlauf der hämodynamischen Werte für systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Druck, sowie zentralen Venendruck in der Gruppe 1. Angaben in Mittelwerten \pm Standardabweichung, * $p < 0,05$ vs. T1.

Häodynamische Parameter (n=5 Pat)		T 1	T 2	T 3	T 4
Herzfrequenz	Schläge/min	70,6 ± 9,7	-	-	101,4 ± 19,0*
Systolischer Blutdruck	mmHg	116,4 ± 12,3	-	-	103,2 ± 11,8
Diastolischer Blutdruck	mmHg	63,2 ± 14,3	-	-	48,0 ± 8,7
Mittlerer Arterieller Druck (MAP)	mmHg	79,5 ± 11,5	52,9 ± 5,6*	60,2 ± 8,5*	66,4 ± 9,3
Zentraler Venendruck	mmHg	7,4 ± 5,0	2,8 ± 1,5	5,0 ± 3,4	9,6 ± 4,3

Tabelle 4: Intraoperativer Verlauf der häodynamischen Werte für systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Druck, sowie zentralen Venendruck in der Gruppe 2 (Eingriffe im Kreislaufstillstand). Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05 vs. T1.

Mittels Pulmonalkatheter wurden der mittlere pulmonalarterielle Druck (MPAP), der Wedgedruck (PCWP), das Herzzeitvolumen (HZV) und der Herzindex (HI) ermittelt. Der systemische Gefäßwiderstand (SVR) und der pulmonale Gefäßwiderstand (PVR) wurden nach Formel (siehe S. 26, 2.6.1) in einer Subpopulation von 5 Patienten der Gruppe 1 ermittelt. Alle Patienten erhielten zu Narkosebeginn eine 8,5 French Schleuse in die Vena jugularis interna um einen Pulmonaliseinschwemmkatheter einzuführen. Bei 5 Patienten war das aufgrund eines pulmonalen Hypertonus notwendig. Die Daten unterschieden sich zu keinem Messzeitpunkt signifikant voneinander (**Tabelle 5**), wobei nicht zu allen Messzeitpunkten eine ausreichende Fallzahl erreicht wurde.

Der mittlere pulmonalarterielle Druck war bereits zu Narkosebeginn (T1) im Sinne eines pulmonalen Hypertonus deutlich erhöht ($32,7 \pm 6,7$ mmHg). Der Wedgedruck zeigte zu allen Messzeitpunkten Normalwerte.

Sowohl HZV, als auch HI zeigten in T1 und T4 Normalwerte. Das HZV stieg von $5,0 \pm 0,3$ l/min (T1) auf $8,4 \pm 2,5$ l/min in T4.

Der systemische Gefäßwiderstand (SVR) und der pulmonalvaskuläre Gefäßwiderstand (PVR) zeigten keine signifikanten Veränderungen. Auch der Sauerstoffangebotsindex (DO₂I) zeigt keine signifikanten Veränderungen zu den verschiedenen Messzeitpunkten.

Hämodynamische Parameter (n=5 Pat)		T 1	T 2	T 3	T 4
Pulmonalarterieller Mitteldruck (MPAP)	mmHg	32,7 ± 6,7	-	-	23,3 ± 6,8
Wedge- Druck	mmHg	11,5 ± 3,5	-	-	6,8 ± 2,5
Herzzeitvolumen	l/min	5,0 ± 0,3	-	-	8,4 ± 2,5
Herzindex	l min ⁻¹ m ⁻²	2,6 ± 0,4	-	-	4,3 ± 1,2
Systemischer Gefäßwiderstand	dyn sec cm ⁻⁵	1084,0 ± 97,6	-	-	593,0 ± 375,6
Pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstand	dyn sec cm ⁻⁵	264,5 ± 3,5	-	-	172,3 ± 69,6
Sauerstoffangebotsindex (DO₂I)	ml min ⁻¹ m ⁻²	381,2 ± 78,7	-	-	471,0 ± 85,5

Tabelle 5: Intraoperativer Verlauf des mittleren pulmonalarteriellen Druckes, des Wedgedruckes, des Herzzeitvolumens, des Herzindexes, des systemischen Gefäßwiderstands (SVR), des pulmonalvaskulären Gefäßwiderstands (PVR) und des Sauerstoffangebotsindexes (DO₂I). Die Messungen erfolgten bei 5 Patienten aus der Gruppe 1. Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05.

3.4 Veränderungen der Körpertemperatur

Die Ausgangstemperaturen von 35,2°C bzw. 35,4°C (T1) wurden in T2 mittels Wärmeaustauscher gesenkt (**Tabelle 6**). Hierbei lag die Körpertemperatur in der Gruppe 1 mit 28,7 ± 2,6°C signifikant höher als in der Gruppe 2 (21,1 ± 5,5°C). Während des Stillstands wurden orale Temperaturen von 16,4 ± 1,7°C in Gruppe 2 gemessen. Die Abkühlung der Körpertemperatur des Patienten in T2 und T after CA zählt zu den protektiven Massnahmen, die im Rahmen der extrakorporalen Zirkulation ergriffen werden müssen, um u.a. den Sauerstoffbedarf des Gewebes zu senken. In der späten Phase der extrakorporalen Zirkulation (T3) wurde die Temperatur in beiden Gruppen mittels Wärmeaustauscher auf über 35,1 bzw. 36,5°C angehoben. Diese Temperaturen wurden in T4 beibehalten. Aufgrund der signifikanten Veränderungen der Körpertemperatur während den verschiedenen Messzeitpunkten stellt sich die Frage nach einer Korrelation der Werte mit den mikrozirkulatorischen Parametern erythrozytäre Fließgeschwindigkeit, venolärer Gefäßdurchmesser und Funktionelle Kapillardichte. In Gruppe 1 korrelierten diese

Parameter nicht miteinander. Aufgrund der zu geringen Fallzahl wurde eine Korrelation in Gruppe 2 mit 5 Patienten nicht erstellt.

Körpertemperatur Gruppe 1	T1	T2	T after CA	T3	T4
oral (°C)	35,2 ± 0,5	28,7 ± 2,6*	-	35,1 ± 3,3	36,3 ± 1,1
Körpertemperatur Stillstand-Gruppe 2					
oral (°C)	35,4 ± 0,5	21,1 ± 5,5*	16,4 ± 1,7*	36,5 ± 1,5	36,1 ± 0,9

Tabelle 6 : Veränderung der oralen Körpertemperatur in Abhängigkeit der 5 Messzeitpunkte in Gruppe 1 und 2. Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05, vs. T1. T after CA = Messung innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes (CA= cardiac arrest).

3.5 Hämatologische Parameter

3.5.1 Hämoglobin (Hb)- und Hämatokrit (Hkt)- konzentration

Der intraoperative Verlauf des Hämoglobin- und Hämatokritwertes ist in **Tabelle 7 und 8** dargestellt. In Gruppe 1 lag die Hämoglobinkonzentration zu Narkosebeginn bei $10,1 \pm 1,2$ g/dl und der Hämatokritwert bei $26,6 \pm 7,9$ %. Es kam zu einem signifikanten Hb-Konzentrationsabfall in T2 auf $6,8 \pm 1,1$ g/dl und in T3 auf $8,1 \pm 1,1$ g/dl mit Hb-Anstieg in T4. Der Hkt- Wert verhielt sich gleichsinnig. Dies erklärt sich durch Hämodilution infolge Infusion großer Volumenmengen (das Füllvolumen der HLM beträgt zwischen 1,6 - 2,5 l). Mittels CytoscanTM A/R konnte dieser Hkt- Abfall durch eine verminderte Kontrastierung der Gefäße der sublingualen Mikrozirkulation visualisiert werden.

Auch in Gruppe 2 kam es zu einem signifikanten Abfall von Hb und Hkt während der extrakorporalen Zirkulation.

3.5.2 Leukozytenanzahl im Serum

Wie aus **Tabelle 7 und 8** ersichtlich wiesen die Patienten der Gruppe 1 zu Narkosebeginn (T1) eine Leukozytenkonzentration von $5,3 \pm 1,8 \times 10^9/l$ auf, was Normalwerten entspricht. Erst in T4 kam es zu einem signifikanten Leukozytenanstieg auf $11,2 \pm 3,9 \times 10^9/l$. Gruppe 2 zeigte vergleichbare Veränderungen, die jedoch aufgrund der geringen Fallzahl nicht das Signifikanzniveau erreichten.

Hämatologische Parameter (n=27 Pat)		T 1	T 2	T 3	T 4
Hämoglobin (Hb)	g/dl	10,1 ± 1,2	6,8 ± 1,1*	8,1 ± 1,1*	9,2 ± 0,7
Hämatokrit (Hkt)	%	26,6 ± 7,9	16,9 ± 8,0 *	21,6 ± 6,6*	24,4 ± 7,0
Leukozyten	10⁹/l	5,3 ± 1,8	3,5 ± 0,8	6,6 ± 3,3	11,2 ± 3,9*

Tabelle 7: Intraoperativer Verlauf der Hämoglobin-, Hämatokrit- und Leukozytenkonzentration in Gruppe 1. Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05 vs. T1.

Hämatologische Parameter (n=5 Pat)		T 1	T 2	T 3	T 4
Hämoglobin (Hb)	g/dl	11,9± 2,7	7,3 ± 1,0*	8,5 ± 1,0*	9,8 ± 0,9
Hämatokrit (Hkt)	%	34,5 ± 7,9	22,2 ± 6,2*	24,5 ± 3,7*	28,1 ± 3,4
Leukozyten	10⁹/l	4,6 ± 0,5	1,4 ± 0,6	5,3 ± 3,4	11,9 ± 4,0

Tabelle 8: Intraoperativer Verlauf der Hämoglobin-, Hämatokrit- und Leukozytenkonzentration in Gruppe 2. Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05 vs. T1.

3.6 Blutgasanalyse

Die Ergebnisse der arteriellen Blutgasanalyse werden als Mittelwerte ± Standardabweichung in **Tabelle 9 und 10** wiedergegeben.

In Gruppe 1 (**Tabelle 9**) wurden in T1 unter maschineller Beatmung bei 100 % Sauerstoff zu niedrige PaO₂-Werte (374,9 ± 98,6 mmHg) erzielt, die restlichen Parameter lagen im Normbereich. Im Verlauf kam es in T3 zu einem signifikanten pH- Abfall auf 7,24 ± 0,7, einem Laktatanstieg (1,8 ± 0,6 mmol/l) und einem Basenüberschuss (BE)- Abfall auf -2,4 ± 4,9 mmol/l im Sinne einer metabolischen Azidose. Zudem zeigte sich in T3 ein signifikanter Kaliumanstieg auf 5,2 ± 1,0 mmol/l, ein Natriumabfall (134,2 ± 3,5 mmol/l) und ein Blutzuckeranstieg auf 179,7 ± 49,0 mg/dl. Eine Stunde nach Reperfusion (T4) kam es über eine PaCO₂- Erniedrigung auf 35,3 ± 4,2 mmHg zu einer Normalisierung des pH-Wertes (7,39 ± 0,1), bei weiter ansteigendem Laktat (3,2 ± 1,2 mmol/l) und BE- Abfall auf -3,4 ± 2,3 mmol/l. Die arterielle Sauerstoffsättigung fiel in T3 signifikant auf 98,7 ± 0,4 %, bei ansonst minimalen Veränderungen.

In Gruppe 2 (**Tabelle 10**) zeigten sich in T1 ebenfalls zu niedrige PaO₂- Werte (417,8 ± 67,0 mmHg). Allerdings kam es schon früher als in Gruppe 1 (in T2) zu einer metabolischen Azidose mit einem pH- Abfall auf 7,33 ± 0,1, ein Standardbicarbonatabfall auf 20,2 ± 1,3 mmol/l und einem Basenüberschuss (BE)- Abfall auf -5,1 ± 1,7 mmol/l. Zudem kam es in T3 zu einem signifikanten Laktatanstieg auf 2,5 ± 1,1 mmol/l und einem Abfall des PaO₂ auf 250,4 ± 58,4 mmHg. In T4 wurde ein weiterer Laktatanstieg auf 2,8 ± 2,4 mmol/l verzeichnet, ebenso kam es zu einem Anstieg der Blutzuckerwerte (185,3 ± 20,6 mg/dl).

Parameter der Blutgasanalyse (n=27 Pat)	T1	T2	T3	T4
pH	7,46 ± 0,1	7,36 ± 0,1*	7,24 ± 0,7*	7,39 ± 0,1*
Laktat (mmol/l)	0,7 ± 0,2	1,0 ± 0,4	1,8 ± 0,6*	3,2 ± 1,2*
SHCO₃⁻ (mmol/l)	24,5 ± 1,9	22,0 ± 2,3*	21,9 ± 1,7*	21,5 ± 1,8*
BE (mmol/l)	+0,2 ± 2,6	-2,9 ± 2,8*	-2,4 ± 4,9*	-3,4 ± 2,3*
PaCO₂ (mmHg)	33,8 ± 3,0	39,6 ± 3,7*	40,6 ± 8,3*	35,3 ± 4,2
PaO₂ (mmHg)	374,9 ± 98,6	287,5 ± 77,2*	263,7 ± 69,6*	308,0 ± 119,6
K⁺ (mmol/l)	3,9 ± 0,5	4,9 ± 0,6*	5,3 ± 1,0*	4,2 ± 0,7
Na⁺ (mmol/l)	138,0 ± 2,2	132,3 ± 5,8*	134,2 ± 3,5*	137,6 ± 3,3
Glukose (mg/dl)	107,5 ± 22,5	147,0 ± 45,3*	179,7 ± 49,0*	176,9 ± 47,8*
SO₂ (%)	99,5 ± 1,2	99,6 ± 0,5	98,7 ± 0,4*	99,7 ± 1,5

Tabelle 9: Intraoperativer Verlauf der Parameter der Blutgasanalyse in Gruppe 1.

(BE= Basenüberschuss, SHCO₃⁻= Standardbicarbonat, PaCO₂= arterieller Kohlendioxidpartialdruck, PaO₂= arterieller Sauerstoffpartialdruck, K⁺= Serum-Kalium, Na⁺= Serum-Natrium, SO₂= arterielle Sauerstoffsättigung) Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05, vs. T1.

Parameter der Blutgasanalyse (n=5Pat)	T1	T2	T3	T4
pH	7,43 ± 0,0	7,33 ± 0,1	7,35 ± 0,1	7,39 ± 0,1
Laktat (mmol/l)	0,7 ± 0,1	1,0 ± 0,2	2,5 ± 1,1*	2,8 ± 2,4*
SHCO₃⁻	23,5 ± 0,7	20,2 ± 1,3*	21,7 ± 1,4	22,2 ± 1,1

(mmol/l)				
BE (mmol/l)	-1,2 ± 0,8	-5,1 ± 1,7	-2,3 ± 3,6	-2,7 ± 1,4
PaCO₂ (mmHg)	33,3 ± 3,9	39,2 ± 6,9	39,4 ± 4,4	37,3 ± 7,4
PaO₂ (mmHg)	417,8 ± 67,0	346,6 ± 59,9	250,4 ± 58,4*	357,0 ± 109,0
K⁺ (mmol/l)	3,9 ± 0,5	4,5 ± 0,9	4,7 ± 0,9	4,5 ± 0,5
Na⁺ (mmol/l)	139,0 ± 2,5	131,6 ± 8,4	134,3 ± 4,3	137,6 ± 2,2
Glukose (mg/dl)	99,2 ± 15,1	124,8 ± 44,5	147,6 ± 32,2	185,3 ± 20,6*
SO₂ (%)	99,3 ± 0,2	99,2 ± 0,3	98,5 ± 0,9	99,2 ± 0,5

Tabelle 10: Intraoperativer Verlauf der Parameter der Blutgasanalyse in Gruppe 2.

(BE= Basenüberschuss, SHCO_3^- = Standardbicarbonat, PaCO_2 = arterieller Kohlendioxidpartialdruck, PaO_2 = arterieller Sauerstoffpartialdruck, K^+ = Serum-Kalium, Na^+ = Serum-Natrium, SO_2 = arterielle Sauerstoffsättigung) Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05, vs. T1.

3.7 Flüssigkeitsbilanz

In **Tabelle 11 und 12** sind die Flüssigkeitsmengen für die intraoperative Volumenbilanz getrennt nach Einfuhr, d.h. Kristalloide, Kolloide, Erythrozyten- Konzentrate (EK), Thrombozytenkonzentrate (TK), Fresh Frozen Plasma (FFP), Kardioplegie- und Priming- Lösung und Ausfuhr (Hämofiltration, Urinausscheidung, Restfüllvolumen der HLM) aufgelistet.

Die Priming- Lösung d.h. das Vorfüllvolumen für die HLM enthielt 800-1100 ml Voll-Elektrolytlösung (Na^+ 140 mmol, K^+ 5 mmol, Ca^{2+} 2,5 mmol, Mg^{2+} 1,5 mmol, Cl^- 153 mmol), 500 ml Hydroxyethylstärke 6%, Mannitol 20 % 3 ml/kg Körpergewicht und ggf. Natriumbikarbonat (NaHCO_3) 8,4 % und Aprotinin (Trasylol®).

Die Menge der kardioplegischen Lösung wurde bei der Flüssigkeitsbilanz in Gruppe 1 und Gruppe 2 in vollem Umfang berücksichtigt. Die Menge, der tatsächlich in den Gesamtkreislauf gelangten Kardioplegie-Lösung ist variabel und von verschiedenen Faktoren abhängig (siehe Kap. 2.6.3). Bei einer Doppelkanülierung und Eröffnung des rechten Vorhofs kann nahezu die gesamte Kardioplegielösung abgesaugt werden. Dadurch gelangt eine geringe Menge in den Gesamtkreislauf. Bei Einfachkanülierung kann die gesamte Kardioplegielösung aus dem Koronarsinus in die venöse Kanüle und damit in den Gesamtkreislauf gelangen.

Während der Hämofiltration werden harnpflichtige Substanzen durch Konvektion aus dem Blut entfernt. Hierbei wird ein Hämofilter in das HLM- System eingebaut. Diese

Massnahme ist z.B notwendig um u.a die Kardioplegie-Lösung aus dem Organismus zu entfernen. In unserem Patientenkollektiv wurde in 20 von 32 Patienten eine Hämofiltration während der HLM durchgeführt. Das am Ende der Operation in der Herz-Lungen-Maschine verbleibende Restvolumen wurde in der Ausfuhr berücksichtigt.

Kolloide und Kristalloide wurden routinemässig in T1 und T2 bei jedem Patienten verabreicht und eine Priming- Lösung in T2 von $1778,2 \pm 165,2$ ml in Gruppe 1 und $1900,0 \pm 115,5$ ml in Gruppe 2 gegeben. In Gruppe 1 und 2 wurden ausserdem vergleichbare Mengen an Kardioplegie-Lösung verabreicht.

In Gruppe 1 wurden durchschnittlich $2,0 \pm 2,0$ EK's ($570,0 \pm 627,4$ ml), keine TK's und $0,7 \pm 2,0$ FFP's ($146,7 \pm 435,7$ ml) verabreicht. Der intraoperative Blutverlust und die Menge des Cellsaverblutes wurden leider nicht in den Unterlagen vermerkt, sodass diese nicht in die Volumenbilanz mit eingerechnet werden konnten.

Insgesamt wurde in Gruppe 1 eine Plusbilanz von $4917,0 \pm 1990,5$ ml erzielt, was dazu führte, dass der ZVD von initial (T1) $6,6 \pm 3,6$ mmHg auf $10,6 \pm 4,6$ mmHg in T4 anstieg.

In Gruppe 2 wurden durchschnittlich mehr Blutprodukte infundiert. Die Patienten erhielten $2,8 \pm 2,4$ EK's ($796,0 \pm 677,0$ ml), $2,8 \pm 2,7$ FFP's ($616 \pm 590,3$ ml) und signifikant mehr TK's. Während in Gruppe 1 kein Patient TK's bekam, wurde in Gruppe 2 $210 \pm 171,5$ ml TK's verabreicht. In Gruppe 2 wurde eine Plusbilanz von $6147,5 \pm 1811,0$ ml erzielt. Zwischen Gruppe 1 und 2 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Bilanz. Die Urinausscheidung, die Hämofiltration und das in der HLM verbleibende Restfüllvolumen waren in beiden Gruppen vergleichbar.

Gruppe 1 (n=25)		Einfuhr		Ausfuhr	
Kristalloide	ml	1542,1	± 599,4		
Kolloide	ml	1029,0	± 393,5		
Erythrozyten-Konzentrate (EK)	ml	570,0	± 627,4		
Thrombozyten-konzentrate (TK)	ml	0,0	0,0		
Fresh Frozen Plasma (FFP)	ml	146,7	± 435,7		
Priming-Lösung	ml	1778,2	± 165,2		
Kardioplegie-Lsg	ml	2553,3	± 938,2		
Hemofilter	ml			1282,4	± 1000,8
Urinausscheidung	ml			1108,3	± 495,9
Restfüllvolumen HLM-System	ml			447,1	± 234,8
		+ 7809,8	± 2209,1	- 2865,6	± 1178,8
Bilanz	ml	+ 4917,0 ± 1990,5			

Tabelle 11: illustriert die perioperative Ein- und Ausfuhr und die daraus resultierende Flüssigkeitsbilanz in Gruppe 1. Kolloide= Hydroxylethylstärke 6% (HES), Kristalloide= NaCl 0,9 %, Kardioplegie-Lösung, Priming-Lösung= 800-1100 ml Voll-Elektrolytlösung, 500 ml Hydroxylethylstärke 6%, Mannitol 20 % 3 ml/kg Körpergewicht, Restfüllvolumen im HLM-System; Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung.

Gruppe 2 (n=5)		Einfuhr		Ausfuhr	
Kristalloide	ml	1962,5	± 805,4		
Kolloide	ml	1002,5	± 408,3		
Erythrozyten-Konzentrate (EK)	ml	796,0	± 677,0		
Thrombozyten-konzentrate (TK)	ml	210,0*	± 171,5		
Fresh Frozen Plasma (FFP)	ml	616,0	± 590,3		
Priming-Lösung	ml	1900,0	± 115,5		
Kardioplegie-Lsg	ml	2507,5	± 1043,5		
Hemofilter	ml			1725,0	± 1201,0
Urinausscheidung	ml			1125,0	± 805,7
Restfüllvolumen HLM-System	ml			350,0	± 57,7
		+ 9347,5	± 564,4	- 3200,0	± 1971,5
Bilanz	ml	+ 6147,5 ± 1811,0			

Tabelle 12: illustriert die perioperative Ein- und Ausfuhr und die daraus resultierende Flüssigkeitsbilanz in Gruppe 2. Kolloide= Hydroxylethylstärke 6% (HES), Kristalloide= NaCl 0,9 %, Priming-Lösung= 800-1100 ml Voll- Elektrolytlösung, 500 ml Hydroxylethylstärke 6%, Mannitol 20 % 3 ml/kg Körpergewicht, Restfüllvolumen im HLM-System; Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung. *p<0,05, vs. Gruppe 1.

3.8 Medikamentöse Therapie

Die Entwöhnungsphase von der HLM geht häufig mit der Gabe von Katecholaminen einher und die Dosierungen für Dopamin, Noradrenalin, Adrenalin, Milrinon und Isoprenalin waren in T3 und T4 tendenziell höher. Die Basiswerte wurden in mittlerer Dosierung angegeben und als Mittelwert mit Standardabweichung aufgelistet. In Gruppe 1 (siehe **Tabelle 13**) wurde Dopamin in 18 Patienten, Noradrenalin in 19 Patienten und Adrenalin in 20 von 27 Patienten verabreicht. Milrinon und Isoprenalin war bei 7 bzw. 6 Patienten von 27 Patienten indiziert. Statistisch signifikant erhöht war die Adrenalindosis in T3 ($0,26 \pm 0,38$ mg/h) und T4 ($0,27 \pm 0,30$ mg/h) verglichen zu T1 ($0,03 \pm 0,16$ mg/h).

In Gruppe 2 (siehe **Tabelle 14**) erhielten die Patienten vergleichsweise häufiger Katecholamine. Es wurden allerdings keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu T1 beobachtet. Auch im Vergleich der Gruppen 1 und 2 zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Gruppe 1 (n=27 Pat)		T 1	T2	T 3	T 4
Dopamin (n=18 Pat)	mg/h	5,2 ± 8,3	2,2 ± 6,4	5,0 ± 7,8	4,8 ± 7,1
Noradrenalin (n=19 Pat)	mg/h	0,10 ± 0,18	0,10 ± 0,23	0,15 ± 0,29	0,19 ± 0,31
Adrenalin (n=20 Pat)	mg/h	0,03 ± 0,16	0,04 ± 0,13	0,26 ± 0,38*	0,27 ± 0,30*
Milrinon (n=7 Pat)	mg/h	0,0 ± 0,0	0,06 ± 0,31	0,10 ± 0,38	0,22 ± 0,50
Isoprenalin (n=6 Pat)	mg/h	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,04 ± 0,11

Tabelle 13: illustriert die perioperative medikamentöse Gabe von Dopamin, Noradrenalin, Adrenalin, Milrinon und Isoprenalin in Gruppe 1 (Berechnung der mittleren Medikamentendosis). Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05, vs. T1.

Gruppe 2 (n=5 Pat)		T 1	T 2	T 3	T 4
Dopamin (n=5 Pat)	mg/h	13,8 ± 9,5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	6,3 ± 12,5
Noradrenalin (n=4 Pat)	mg/h	5,00 ± 0,01	0,0 ± 0,0	0,18 ± 0,35	0,40 ± 0,70
Adrenalin (n=2 Pat)	mg/h	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,18 ± 0,24	0,18 ± 0,24
Milrinon (n=1 Pat)	mg/h	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,4 ± 0,8	0,0 ± 0,0
Isoprenalin (n=1 Pat)	mg/h	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,02 ± 0,03	0,01 ± 0,02

Tabelle 14 illustriert die perioperative medikamentöse Gabe von Dopamin, Noradrenalin, Adrenalin, Milrinon und Isoprenalin in Gruppe 2 (Berechnung der mittleren Medikamentendosis). Angaben in Mittelwerten ± Standardabweichung, *p<0,05, vs. T1.

3.9 Veränderungen der Adhäsionsmoleküle

In einer Subpopulation von 8 Patienten aus der Gruppe 1 wurden zu den 4 Messzeitpunkten zusätzlich die leukozytären Adhäsionsmoleküle CD 62L und CD 18 im venösen Blut in rFIU (relative fluorescence units) bestimmt. CD 62L gehört zu den Adhäsionsmolekülen der L-Selektine und ist für das Rollen der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL) entlang dem Gefäßendothel, vor allem postkapillärer Venolen, verantwortlich.

CD 18 gehört zur Familie der β_2 - Integrine, welche für die Adhäsion und Emigration polymorphkerniger neutrophiler Leukozyten exprimiert werden und mit den interzellulären Adhäsionsmolekülen ICAM-1 und ICAM-2 gegenüber den Scherkräften des Blutes einen stabilen Zellkontakt ausbilden⁹³.

Diagramm 15 zeigt keine Veränderungen des Adhäsionsmoleküles CD 62L vor, während und nach HLM. Der Wert für CD 62L betrug zum Zeitpunkt T1 35,6 (29,7-44,9) rFIU und in der späten Phase der HLM (T3) 40,3 (37,4-49,0) rFIU. Die Adhäsionsmoleküle werden als Medianwert mit 25.-75. Quantile in Klammern angegeben.

Die intraoperativen Veränderungen von CD 18 werden im **Diagramm 16** gezeigt. CD 18 nahm signifikant von 44,5 (42,0-53,2) rFIU in T1 auf 69,7 (59,9-76,6) rFIU in T3 zu. Beide Adhäsionsmoleküle zeigten einen Abfall in T4.

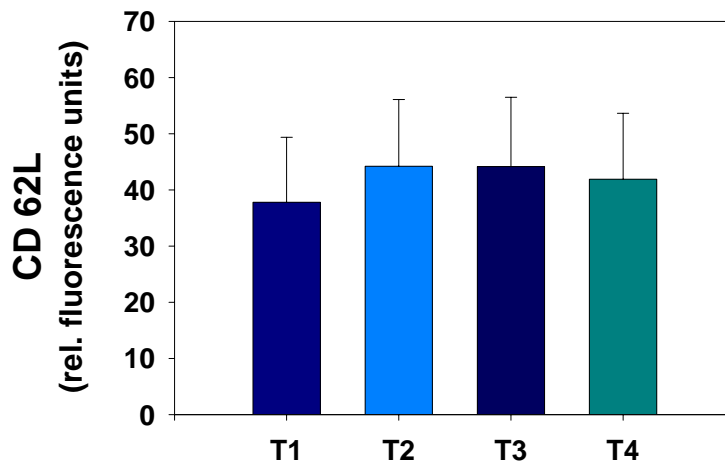


Diagramm 15: Intraoperativer Verlauf des Adhäsionsmoleküls CD62L (Angabe in rFIU = relative fluorescence units). Angaben in Mittelwerten \pm Standardabweichung, *p<0,05, vs. T1.

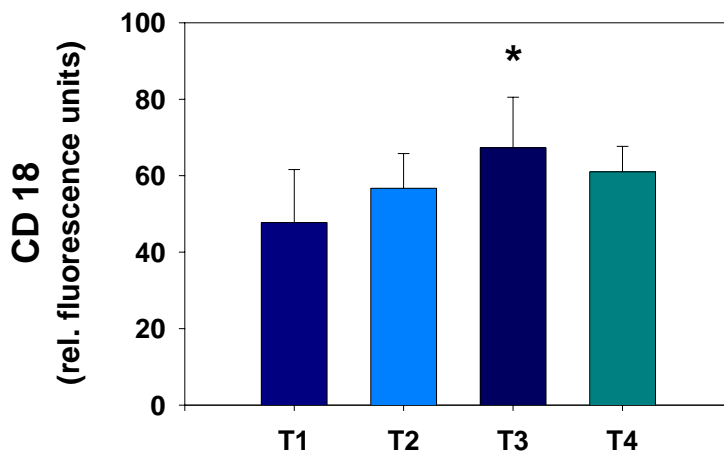


Diagramm 16: Intraoperativer Verlauf des Adhäsionsmoleküls CD 18 (Angabe in rFIU = relative fluorescence units). Es zeigt sich eine signifikante Zunahme in T3. Angaben in Mittelwerten \pm Standardabweichung, * $p < 0,05$, vs. T1. One Way Analysis of Variance mit tukey als post test.

3.10 Veränderungen der mikrozirkulatorischen Parameter in Abhängigkeit von den Messzeitpunkten

3.10.1 Erythrozytäre Fließgeschwindigkeit in den Venolen (Vel)

Diagramm 17 zeigt die Veränderung der venolären Fließgeschwindigkeit (Vel) der Erythrozyten in der Vergleichsgruppe ohne Kreislaufstillstand (Gruppe 1) zu den Messzeitpunkten T1 - T4. Zu Narkosebeginn (T1) betrug die Vel $0,63 \pm 0,4$ mm/sec und blieb mit Beginn der HLM, in T2 nahezu unverändert ($0,67 \pm 0,5$ mm/sec). In der Folge kam es zu einem signifikanten Anstieg der Vel in der späten Phase der HLM (T3) auf $0,72 \pm 0,5$ mm/sec. In T4 lag die Vel mit $0,66 \pm 0,4$ mm/sec geringgradig höher als der Ausgangswert in T1.

Diagramm 18 zeigt die Veränderung der Vel in der Patientengruppe mit Eingriffen im Kreislaufstillstand (Gruppe 2) zu den Messzeitpunkten T1 - T4. Die Vel lag zu Narkosebeginn (T1) bei $0,76 \pm 0,5$ mm/sec. Mit Beginn der HLM kam es zu einer signifikanten Verminderung der Vel auf $0,50 \pm 0,3$ mm/sec. Eine weitere signifikante Reduktion auf $0,03 \pm 0,02$ mm/sec erfolgte während der ersten 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstands.

In T3 stieg Vel zwar auf $0,56 \pm 0,4$ mm/sec an, lag aber immer noch signifikant niedriger als in T1. In der Phase der Reperfusion (T4) wurden annähernd Ausgangswerte erreicht

($0,82 \pm 0,6$ mm/sec). Vergleicht man die erythrozytäre Fließgeschwindigkeit in den Venolen der Gruppe 1 mit den Werten der Gruppe 2 (Mann-Whitney Rank Sum Test), so lag zu Narkosebeginn (T1) die Vel der Gruppe 1 mit $0,63 \pm 0,4$ mm/sec signifikant niedriger als in der Gruppe 2 ($p = 0,005$). Mit Beginn der HLM (T2) fiel die Vel in der Gruppe 2 dann jedoch signifikant unter die Vel der Gruppe 1 ($p \leq 0,001$) und auch in der späten Phase der HLM (T3) lag eine signifikant verminderte Vel in der Gruppe 2 vor ($p = 0,002$).

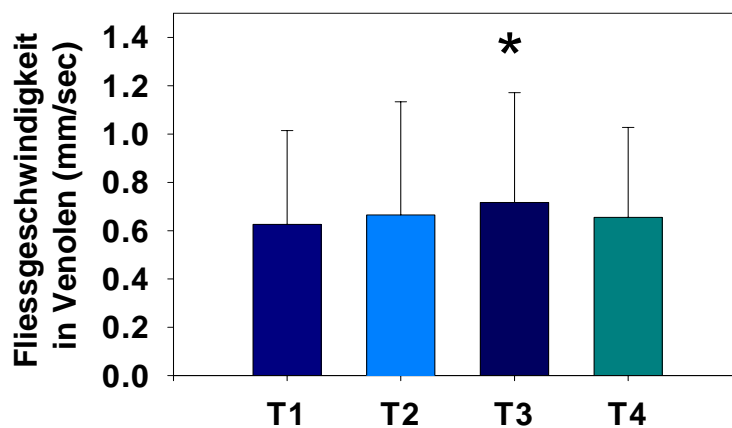


Diagramm 17: Veränderung der erythrozytären Fließgeschwindigkeit in den Venolen (Vel) in Gruppe 1 (n=27) zu den Messzeitpunkten T1 - T4. $p^* < 0,05$ vs. T1; Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks mit Dunn's als post test.

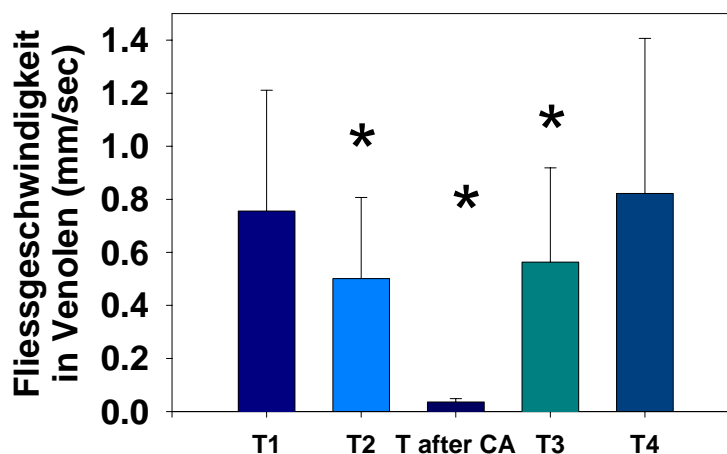


Diagramm 18: Veränderung der erythrozytären Fließgeschwindigkeit in den Venolen (Vel) in der Patientengruppe mit Eingriffen im Kreislaufstillstand (Gruppe 2, n=5) zu den Messzeitpunkten T1-T4. T after CA = Messung innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes (CA= cardiac arrest).

$p^* < 0,05$ vs. T1; Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks mit Dunn`s als post test.

3.10.2 Durchmesser der Venolen (Dia)

Es kam weder in Gruppe 1, noch der Stillstand- Gruppe 2 zu einer signifikanten Veränderung des postkapillären Venolendurchmessers zu den verschiedenen Messzeitpunkten (**Tabelle 19**). Es zeigte sich keine Korrelation mit der Dauer der HLM und des Stillstands.

		Dia T1	Dia T2	Dia after CA	Dia T3	Dia T4
Gruppe 1 (n=27)	µm	27,1 ± 13,2	26,2 ± 12,0	-	26,4 ± 12,1	27,6 ± 11,6
Gruppe 2 (n=5)	µm	25,0 ± 10,9	27,9 ± 12,9	27,4 ± 10,4	26,8 ± 11,0	31,8 ± 16,4

Tabelle 19: Durchmesser der Venolen in µm zu den Messzeitzeitpunkten T1 - T4 in Gruppe 1 und Gruppe 2. Dia after CA = Messung des Venolendurchmessers innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes (CA= cardiac arrest).

$p^* < 0,05$ vs. T1; repeated measures one-way ANOVA mit Dunn`s als post test.

3.10.3 Funktionelle Kapillardichte (FCD)

Diagramm 20 zeigt die Veränderungen der FCD in cm/cm^2 in der Gruppe 1. Zu keinem Messzeitpunkt konnten signifikante Änderungen erfasst werden.

Diagramm 21 stellt die Veränderungen der FCD in der Gruppe 2 dar. Es zeigte sich in T1 eine FCD von $143,0 \pm 36,5 \text{ cm}/\text{cm}^2$, welche in T2 gleich blieb ($138,7 \pm 50,0 \text{ cm}/\text{cm}^2$). Ein signifikanter Abfall der FCD auf $33,3 \pm 29,9 \text{ cm}/\text{cm}^2$ konnte 10 Minuten nach dem Kreislaufstillstand gemessen werden, wobei sich die Werte in T3 ($121,6 \pm 35,7 \text{ cm}/\text{cm}^2$) und T4 ($152,6 \pm 37,9 \text{ cm}/\text{cm}^2$) rasch auf die Ausgangswerte normalisierten. Wir konnten keine signifikante Korrelation zwischen Veränderungen der FCD und der Dauer der HLM ($r^2 = 0,01$) und der Dauer des Kreislaufstillstandes ($r^2 = 0,03$) finden. Allerdings korrelierte

die signifikante Reduktion der FCD in T after CA mit dem Grad der Hämodilution ($r^2=0,95$). In Gruppe 1 zeigte sich keine Korrelation zwischen FCD und Hb.

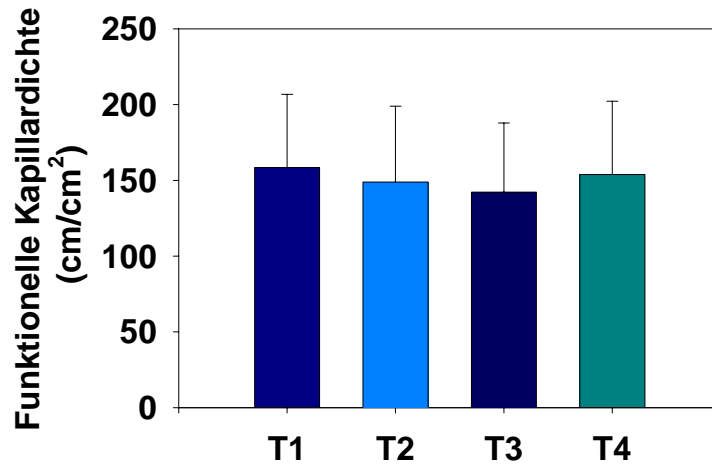


Diagramm 20: Veränderungen der Funktionellen Kapillardichte (FCD) in cm/cm² zu den Messzeitpunkten T1 - T4 in der Gruppe 1. $p^* < 0.05$ vs. T1; repeated measures one-way ANOVA.

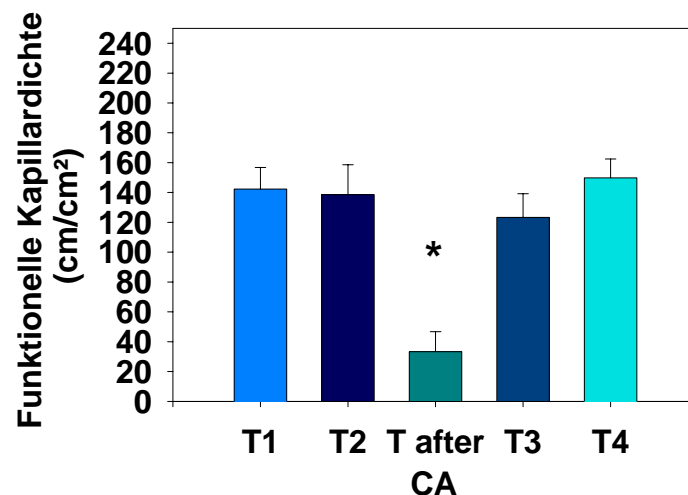


Diagramm 21: Veränderungen der Funktionellen Kapillardichte (FCD) in cm/cm² zu den Messzeitpunkten T1 - T4 in der Stillstand-Gruppe 2. $p^* < 0.05$ vs. T1; repeated measures one-way ANOVA und tukey als post test. T after CA = Messung der FCD innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes (CA= cardiac arrest).

3.10.4 Anzahl der aktivierten Leukozyten

Leukozyten müssen vor ihrer Adhärenz an das Gefäßendothel der postkapillären Venolen aktiviert werden. Diese Aktivierung erfolgt über Interaktion mit Adhäsionsmolekülen.

Der Bildschirm mit den Mikrozirkulationsdaten wurde in 9 Fenster geteilt und die Anzahl der Venolen pro Feld (n/Feld) gezählt und per Hand die rollenden und adhärenenten Leukozyten über 30 Sekunden gelistet (**Tabelle 22**). Die aktivierten Leukozyten waren signifikant in der späten Phase der HLM auf 7,0 (0-100) n/30s/Feld erhöht, sowie in T4 auf 15,4 (0-165) n/30s/Feld (**Tabelle 22**). Der Anstieg in T3 und T4 kann Hinweise auf die Initialisierung einer inflammatorischen Reaktion nach HLM geben¹⁰⁴.

Die Anzahl der postkapillären Venolen zeigte keine signifikanten Veränderungen (**Tabelle 22**).

n = 8 Pat der Gruppe 1		T1	T2	T3	T4
Aktivierte Leukozyten	n / 30s/Feld	2,3 (0-66)	2,7 (0-60)	7,0 (0-100)*	15,4 (0-165)*
Anzahl postkapillärer Venolen	n/Feld	3,6 ± 2,1	3,2 ± 1,9	3,3 ± 1,9	3,3 ± 1,7

Tabelle 22: Anzahl der postkapillären Venolen und der aktivierten Leukozyten in 8 Patienten der Gruppe 1 zu den Zeitpunkten T1-T4. Angabe der aktivierten Leukozyten als Medianwert mit 25.-75. Quantile in Klammern. Die Anzahl der postkapillären Venolen wurde pro Feld (n/Feld) berechnet. p*< 0.05 vs. T1.

4 Diskussion

4.1 Klinische Anwendbarkeit von OPS imaging

In dieser Untersuchung stand die klinische Anwendbarkeit und die Praktikabilität, sowie die Sicherheit und das diagnostische Potential von OPS imaging im Mittelpunkt unseres Interesses.

Als Messort für die Mikrozirkulation wurde die sublinguale Mundschleimhaut gewählt, da diese für den Anästhesisten intraoperativ einfach zugänglich ist und deren Blutversorgung mit der Perfusion innerer Organe korreliert^{47;105}. Die sublinguale Mundschleimhaut ist bisher der häufigste Messort für die OPS imaging Technik¹⁴.

4.1.1 Vergleichbarkeit der Daten

Die grundlegende Frage nach der Vergleichbarkeit der mikrozirkulatorischen Daten venolärer Gefässdurchmesser, venoläre Erythrozyten- Fließgeschwindigkeit und Funktionelle Kapillardichte, welche durch die konventionelle Intravitalmikroskopie (IVM) und die neue Methodik des OPS imagings ermittelt wurden, konnte bereits in zahlreichen tierexperimentellen Studien beantwortet werden. Im Tiermodell wurden identische Gefässe zu unterschiedlichen Messzeitpunkten mit OPS imaging und IVM untersucht. Die quantitativen Daten beider Methoden korrelierten und mit OPS imaging können der IVM vergleichbare Daten erhoben werden^{6;30;35;53;54;55;61}.

Ein Problem der klinischen Anwendung von OPS imaging besteht in der fraglichen Vergleichbarkeit der Daten venolärer Gefässdurchmesser, venoläre Erythrozyten-Fließgeschwindigkeit und Funktionelle Kapillardichte zu unterschiedlichen Messzeitpunkten. Identische Gefässe können bisher aufgrund Gefässvariabilität und Grösse des sublingualen Mikrozirkulationsbettes, nicht gezielt zu den verschiedenen Messzeitpunkten identifiziert werden¹⁴. Im Tiermodell ist dies beispielsweise durch die Hamster- Rückenhautkammer möglich, wo die zu untersuchenden Areale markiert werden können^{31;35;36;74}. Für die klinische Anwendung müssen daher wesentlich mehr Daten ermittelt werden, um eine statistische Signifikanz zu erhalten.

4.1.2 Sicherheit der Anwendung

Aufgrund der erstmalig klinischen Anwendung dieses Intravitalmikroskops in der herzchirurgischen Anästhesie stellt sich primär die Frage, ob OPS imaging während

herzchirurgischer Eingriffe leicht und sicher anwendbar ist. Für die konventionelle Intravitalmikroskopie werden zur Kontrastverbesserung Fluoreszenz- Farbstoffe appliziert. OPS imaging hingegen beruht auf Absorption von linear polarisiertem Licht ohne Anwendung von Farbstoffen und scheint dadurch nebenwirkungsfrei zu sein^{30;35}. Auch ist die OPS imaging Sonde, welche die Grösse eines Kugelschreibers aufweist (Durchmesser der Sondenspitze 8 mm) in der klinischen Routine leicht anwendbar und die Handhabung des Geräts war ohne spezielle Einarbeitung möglich. OPS imaging konnte bei allen Patienten angewendet werden¹⁴.

Bei zu hohem Sondendruck beobachteten wir in 12,5 % aller Patienten Verletzungen der sublingualen Mundschleimhaut mit Ausbildung von Mikrohämatomen. Diese waren jedoch für die Patienten nicht schmerzhaft und heilten komplikationslos ab. Die Mikrohämatome traten nach Heparinisierung auf und konnten auch durch Einführen einer transösophagealen Echokardiographie- Sonde an anderen Stellen der Mundschleimhaut beobachtet werden¹⁴. D. h. die Verletzungen an der Mundschleimhaut werden nicht nur durch die OPS imaging Sonde sondern auch durch Kontakt der Schleimhaut mit anderen Geräten hervorgerufen. Da die Mikrohämatome bei Einsatz der OPS imaging Technik in anderen Studien nicht beobachtet wurden^{5;6;53-55;60;62;94}, scheinen diese in direktem Zusammenhang mit der Heparinisierung unter HLM zu stehen.

4.1.3 Druck- und Bewegungsartefakte

Stabile Bilder sind Grundvoraussetzung für die automatisierte Auswertung. Problematisch erwiesen sich daher Bewegungsartefakte von Seiten des Anwenders oder der Operateure, da zur Messung der Erythrozyten- Fliessgeschwindigkeit und zur Bestimmung der FCD eine ruhige Videosequenz von 5- 10 Sekunden benötigt wird⁵¹. Erschwert wurden die Messungen auch durch das Gleiten und die Eigenbewegungen der Zunge. Die OPS imaging Sonde wurde während der Messung am Zungengrund positioniert, weil die Eigenbewegungen der Zunge dort geringer sind, als an der Zungenunterfläche. Ein Verrutschen der Sonde ist seltener als im Bereich der Wangenschleimhaut, da die Sonde rechts und links des Frenulums gut positioniert werden kann. Auch sind in diesem Bereich postkapilläre Venolen und Kapillaren gut darstellbar^{14;30}. Durch die Bewegung von Gewebe und OPS imaging Sonde wird auch die optimale Fokussierung während der Messung erschwert und die Qualität der Mikrozirkulationsbilder beeinträchtigt⁵⁸.

Ein weiteres Problem zeigt sich, wenn man die Sonde mit zu hohem Druck auf die Mundschleimhaut aufsetzt. Es kommt zu einer Verlangsamung der Erythrozyten-

Fliessgeschwindigkeit bis hin zur Blutstase, da durch den Sondendruck die Gefässe komprimiert und die Erythrozyten im Fluss behindert werden. Auch die Zirkulation in den Kapillaren und der Venolendurchmesser werden beeinflusst¹⁴. Da die FCD definiert ist als die Länge der Erythrozyten- perfundierten Kapillaren pro Beobachtungsareal (in cm/cm²), kann durch Sondendruck die Perfusion gestört und Fehlmessungen im Sinne scheinbar nicht- perfundierter Areale auftreten. Wir versuchten dies zu verhindern, indem die Mikrozirkulationsbilder immer wieder off- line am Videorecorder abgespult wurden, um in Echt- Zeit die Kapillarperfusion zu kontrollieren. D.h. druckbedingte Verlangsamung oder Stase konnte am bewegten Bild erkannt werden⁷⁵. Eine objektive Kontrollmöglichkeit oder Messung des mittels Sondenspitze applizierten Druckes stand uns nicht zur Verfügung und ist sicherlich ein Kritikpunkt, der von uns angewandten Methode. Entweder muss eine zusätzliche Möglichkeit der Druckmessung und -kontrolle gefunden werden oder ein Kontakt der Sondenspitze mit dem zu untersuchenden Gewebe vermieden werden. Hierbei ist sicher auch der Applikationsort des Gerätes und die Anatomie des zu untersuchenden Organs entscheidend. Uhl und Mitarbeiter beobachteten in einer klinischen Studie die Mikrozirkulation während intracerebraler Aneurysma- Operationen und intrakranieller Tumorentfernung⁹⁷. Die OPS imaging Sonde wurde dabei in ein Stereotaxiegerät eingebaut, um eine konstante Distanz von 2 mm zwischen Sondenspitze und Gewebe zu ermöglichen. Die Bildqualität wurde durch Spülungen der Dura- Oberfläche mit physiologischer NaCl- Lösung 0,9 % verbessert. Auch Thomale und Mitarbeiter setzten diese Technik ein, um die Mikrozirkulation im normalen und traumatisierten Gewebe der Pia mater im Tiermodell zu untersuchen⁹⁴. Für den sublingualen Einsatz kommt diese Technik durch zu viele Bewegungsartefakte und Platzmangel nicht in Frage.

Eine weitere Lösung für das Problem der Druck- und Bewegungsartefakte wurde von Lindert, Pries und Mitarbeitern 2002 erarbeitet. Diese entwickelten eine sterilisierbare Saugvorrichtung aus Stahl, welche an die sterile Plastikkappe (CytolensTM) montiert wird und Bewegungsartefakte reduziert, sowie die Kompression der Gefässe vermindert⁵⁸. Die Vorrichtung verhindert einen direkten Kontakt mit dem zu untersuchenden Gewebe durch einen konstanten Abstand von 0,5 mm zwischen Gewebe und Plastikkappe. Es handelt sich um einen mit 24 Öffnungen durchsetzten Ring, an dessen Seite über einen Konnektor eine Saugvorrichtung angeschlossen werden kann. Der Sog (30 - 100 mmHg) bewirkt über diese Ringöffnungen eine Fixierung des Gewebes im Ringbereich, während in der Ringmitte die Mikrozirkulation ohne direkten Gewebekontakt gemessen werden kann.

4.1.4 Qualität der Mikrozirkulationsbilder

Wir möchten darauf hinweisen, dass die Qualität der Mikrozirkulationsbilder nach Beginn der HLM durch Kontrastreduktion infolge Hämodilution und Gewebeödem eingeschränkt war und dadurch die Auswertung der mikrozirkulatorischen Parameter erschwert wurde (siehe **Abbildung 11**: Mikrozirkulatorische Veränderungen unter Hämodilution)^{14;84}. Da OPS imaging durch Lichtabsorption des Hämoglobins Kontrast erzeugt und erythrozytenhaltige Gefässe sich dunkel vom umgebenden Gewebe abheben ist unter Hämodilution der Hell- Dunkelkontrast vermindert und eine Auswertung somit schwieriger.

Wir konnten zu den Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede im Bereich des Gefässdurchmessers ermitteln (siehe 3.10.2). Wir halten es durchaus für möglich, dass infolge Hämodilution (insbesondere in T2 und T3) und der damit reduzierten Anzahl der als Kontrastmedium dienenden Erythrozyten eine Änderung des Gefässdurchmessers unterschätzt wurde.

Harris und Mitarbeiter haben im Tiermodell während isovolämischer Hämodilution einen systematischen Fehler von 4- 5 μm in der Bestimmung des venulären Gefässdurchmessers mit OPSimaging im Vergleich zu Messungen mit dem Intravitalmikroskop ermittelt³⁴. Auch konnte ab einem Hämatokrit kleiner 25 % des Ausgangswertes Gewebeödem und eine signifikante Reduktion der FCD beobachtet werden.

Ein Gewebeödem, was die Bildqualität zusätzlich beeinträchtigte, konnte vor allem in Gruppe 2 nach Beendigung des Kreislaufstillstandes ermittelt werden (siehe **Abbildung 12**: Die sublinguale Mikrozirkulation innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes)¹⁴. Auch andere Gruppen berichteten von einer erhöhten Gefässpermeabilität mit Zellödem und Gewebeswellung durch hypoxische Schädigung der Barrierefunktion des Endotheliums im Verlauf der HLM^{11;38;39}.

4.1.5 Praktikabilität des Videobildanalysesystems Cap Image

Wir benutzten das Videobildanalyseystem Cap Image zur computerunterstützten Auswertung der OPS imaging- Bilder⁵¹. Die aufgezeichneten Bilder mussten dabei immer wieder am Videogerät abgespult werden, um beispielsweise am bewegten Bild, d.h. an fließenden Erythrozyten die Kapillarperfusion kontrollieren zu können^{35;51}. Cap Image ist daher sehr zeitaufwendig und Daten können nur off- line erhoben werden¹⁴. Alternativ wurden verschiedene neue Software- Systeme entwickelt, wie Capiscope®, KK Technologies, UK. Diese Methodik ist wesentlich zeitsparender und die Validierung der

Daten venolärer Gefässdurchmesser, venoläre Erythrozyten- Fließgeschwindigkeit und Funktionelle Kapillardichte mit dem Videobildanalyse-System Cap Image zeigte vergleichbare Werte⁸³.

Auch konnte die erythrozytäre Fließgeschwindigkeit in Arteriolen mit Cap Image nicht gemessen werden, da diese über den messbaren Bereich von 1,5 mm/sec liegt^{35;51;61}. Pries und Mitarbeiter haben durch den Ersatz der Standard- Lichtquelle des CytoscanTM A/R Gerät mit einem asynchronen stroboskopischen Blitzlicht in Kombination mit einer speziell entwickelten Software basierend auf der Spatial- Korrelations- Methode eine Möglichkeit gefunden den Messbereich für die erythrozytäre Fließgeschwindigkeit auf 40 mm/sec zu erhöhen. Messungen in Arteriolen sind somit durchführbar^{58;77}.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass OPS imaging während herzchirurgischer Eingriffe am Menschen leicht und sicher einsetzbar ist. Wir konnten mit Ausnahme der Mikrohämatome, welche durch die Heparinisierung auftraten, keinerlei Nebeneffekte beobachten. Mittels OPS imaging war es möglich qualitativ hochwertige Bilder der sublingualen Mikrozirkulation zu erhalten, wobei die Bildqualität durch Bewegungsartefakte, Substanzen wie Blut und Speichel, Hämodilution und Zellödem eingeschränkt wird. Problematisch sind Alterationen der Erythrozyten- Fließgeschwindigkeit durch Gewebekompression der OPS imaging- Sonde. Ein Lösungsansatz für Druck- und Bewegungsartefakte wurde von Pries und Mitarbeitern erarbeitet⁵⁸. Alternativ zum Videobildanalyse-System Cap Image gibt es zeitsparende neue Auswerteverfahren^{58;77;83}.

4.2 Erhebung der mikrozirkulatorischen Parameter

Mittels OPS imaging konnten die ersten Mikrozirkulationsbilder der veränderten Perfusion unter Herz- Kreislaufstillstand und extrakorporaler Zirkulation erhoben werden. Wir zeigten erstmalig, dass die Mikrozirkulation während Eingriffen an der HLM aufrecht erhalten werden kann¹⁴ und der nicht-pulsatile Fluss der HLM gegenüber dem pulsatilem Fluss keinen Einfluss auf die Mikrozirkulation hat.

Neben der Visualisierung der Mikrozirkulation unter der extrakorporalen Zirkulation wurden auch quantitative Daten erhoben. Die Parameter erythrozytäre Fließgeschwindigkeit (Vel) und Gefässdurchmesser (Dia) konnten in postkapillären Venolen gemessen werden, sowie die funktionelle Kapillardichte ermittelt werden.

4.2.1 Erythrozytäre Fliessgeschwindigkeit in den Venolen

Wir konnten zeigen, dass in Gruppe 1 die Vel lediglich in der späten Phase der HLM signifikant anstieg und ansonst nahezu unverändert blieb (Diagramm 17). In Gruppe 2 mit Eingriffen im Kreislaufstillstand konnten in allen Phasen während der HLM signifikant niedrigere Fliessgeschwindigkeiten gemessen werden. Eine dramatische Reduktion der Vel um 74,6 % wurde innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes beobachtet. In T4, eine Stunde nach Reperfusion erreichte die Vel wieder annähernd Ausgangswerte (Diagramm 18).

Verglich man beide Gruppen miteinander, so war die Vel in Gruppe 1 nach Narkosebeginn (T1) signifikant niedriger als in Gruppe 2. Die Ursache der signifikant niedrigeren Flussgeschwindigkeit in Gruppe 1 könnte durch niedrigere Katecholamingaben (Dopamin, Noradrenalin, siehe Tabelle 13/14) als im Vergleich zu Gruppe 2 erklärt werden. Die hämodynamischen Werte unterschieden sich in beiden Gruppen nicht voneinander.

Während der HLM (T2-3) war die Vel dann in Gruppe 2 signifikant niedriger als in der Vergleichsgruppe (siehe 3.10.1). Ursache kann die Temperaturdifferenz zwischen den beiden Gruppen sein, da die Blutviskosität mit zunehmendem Abfall der Körpertemperatur ansteigt^{40,50}. Ähnliche Daten wurden von unserer Gruppe während Eingriffen im Bereich Aorta ascendens- Aortenbogen veröffentlicht⁸⁴.

Von Sack und Mitarbeitern wurde übereinstimmend mit unseren Ergebnissen im Tiermodell während HLM eine signifikante Reduktion der Vel sowohl in Arteriolen als auch Venolen beobachtet⁸¹.

Da während unkomplizierter HLM lediglich moderate Veränderungen der Vel, bei Eingriffen im Kreislaufstillstand aber eine signifikante Verminderung der Vel während der gesamten Messperiode unter HLM auftraten, müssen verschiedene Ursachen in Betracht gezogen werden. Hierbei spielt sicher die bereits erwähnte tiefe Hypothermie in Gruppe 2 mit Senkung der Körpertemperatur auf 16,5°C während des Stillstands eine entscheidende Rolle, da in der Phase der Wiedererwärmung eine rasche Erholung auf Initialwerte beobachtet werden konnte⁸⁴.

Auch eine signifikante Verminderung des mittleren arteriellen Drucks während der HLM hat Einflüsse auf die Mikrozirkulation⁵⁰. Der mittlere arterielle Druck war während der HLM in beiden Gruppen, besonders jedoch in Gruppe 2 erniedrigt (Tabelle 3 und 4). Blutdruck als Ergebnis von HZV und systemischem Gefässwiderstand kann bei Verminderung einer oder beider Faktoren abfallen. Das Perfusionsvolumen der HLM wird mit 2,2- 2,5 l/min/m² Körperoberfläche während der HLM relativ konstant gehalten, kann

jedoch bis zu 50 % variieren und wird dem Mitteldruck und dem peripheren Gefässwiderstand angepasst. Eine mögliche Ursache für den Druckabfall mit Beginn der extrakorporalen Zirkulation liegt in einer Verminderung des systemischen Gefässwiderstands, bedingt durch eine erniedrigte Blutviskosität infolge Hämodilution, Dilution zirkulierender Katecholamine und temporärer Hypoxämie⁵⁰. Die Hämodilution war in beiden Gruppen ausgeprägt. Die Abnahme der Hb-Konzentration betrug in T2 in Gruppe 1 –33 % und in Gruppe 2 –39 % (Tabelle 7 und 8). Die Serumlaktatwerte waren als Hinweis für eine Gewebeazidose mit verstärkter anaerober Glykolyse in Gruppe 2 in der späten Phase der HLM signifikant höher als in Gruppe 1 (Tabelle 9 und 10).

Zudem konnten wir bei Messungen der Vel von 0,6- 0,7 mm/sec eine hohe Standardabweichung von durchschnittlich 0,4- 0,5 mm/sec zu allen Messzeitpunkten ermitteln. Die Validierung im Tiermodell hingegen zeigt eine Standardabweichung der Vel von 0,17 mm/sec³⁵. Ursachen können in der, im Gegensatz zur Patientengruppe, homogenen Population der Tiere liegen. Auch können identische Gefässe am Menschen nicht gezielt zu den verschiedenen Messzeitpunkten identifiziert werden, weil die OPS imaging Sonde für jede Messung neu platziert werden muss und durch die Grösse des sublingualen Mikrozirkulationsbettes Messbereiche nicht lokalisiert werden können¹⁴.

4.2.2 Durchmesser der Venolen

Der Gefässdurchmesser (Dia) wurde in postkapillären Venolen gemessen. Es konnten in beiden Patientengruppen keine signifikanten Veränderungen des Gefässdurchmessers ermittelt werden (Tabelle 19). Sack und Mitarbeiter beobachteten im Tiermodell während HLM eine Vasokonstriktion in Arteriolen der Colonschleimhaut, Aussagen über Venolen lagen nicht vor⁸¹.

Grundsätzlich muss beachtet werden, dass Messungen des Gefässdurchmessers mit OPS imaging, einen systematischen Messfehler mit einer zu geringen Dia- Messung von etwa 4- 5 µm im Vergleich zur Intravitalmikroskopie aufweisen. Die Ursache hierfür liegt in der unterschiedlichen Technik der Ermittlung des Gefässdurchmessers. Mit OPS imaging wird die Breite der Erythrozytensäule als Venolendurchmesser bestimmt, während bei der Intravitalmikroskopie das mit Fluoreszenzfarbstoffen markierte Plasma zur Bestimmung des Gefässdurchmessers herangezogen wird. Harris und Mitarbeiter verglichen identische Gefässe mit OPS imaging und Intravitalmikroskopie und erhielten mit letzter Technik einen 4- 5 µm grösseren Durchmesser³⁵. Zwischen Erythrozyten und Endothelzellen der Gefässwand findet sich eine Plasmaschicht (mit Kontrastmittel darstellbar) von etwa 1 µm,

welche mit OPS imaging nicht sichtbar ist^{43;101}. Eine zusätzliche Erklärung für die Abweichungen im Gefässdurchmesser ist ein durch die Intravitalmikroskopie bedingtes „interfacial scattering“, d.h. ein Missverhältnis zwischen Brechungsindex des Gewebes und des Plasmas, welches zu einem „out of focus halo“ des Lichts führt. Die Strukturen erscheinen dadurch grösser und der Gefässdurchmesser wird um etwa 10 % zu gross gemessen²⁹.

4.2.3 Funktionelle Kapillardichte

Diese Studie veröffentlicht nach unserem Wissen die ersten Messungen der FCD am Menschen während herzchirurgischer Eingriffe vor, während und nach HLM. Wir konnten zeigen, dass in Gruppe 1 und 2 während Eingriffen an der HLM die mikrovaskuläre Perfusion aufrecht erhalten werden konnte¹⁴. Die Funktionelle Kapillardichte, als Indikator für den nutritiven Blutfluss^{36;75} war in Gruppe 1 vor, während und nach der extrakorporalen Zirkulation unverändert (siehe 3.10.3 Diagramm 20).

In Gruppe 2 mit Eingriffen im Kreislaufstillstand konnte ein signifikanter Abfall der FCD innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes auf 23 %, verglichen zum Ausgangswert beobachtet werden. Zu allen anderen Messzeitpunkten war die FCD nicht verändert (siehe Diagramm 21). Auch hier konnte eine rasche Wiederherstellung der FCD ermittelt werden. Die Veränderungen der FCD korrelierten nicht mit der Dauer der HLM und der Clampingzeit der Aorta. Da die FCD in beiden Gruppen nach Beendigung der HLM Ausgangswerte zeigte, ist anzunehmen, dass die nutritive Blutversorgung sowohl nach unkomplizierter HLM, als auch nach Eingriffen im Kreislaufstillstand wieder hergestellt werden kann¹⁴. Auch Duebener und Mitarbeiter konnten zeigen, dass weder der nicht- pulsatile Fluss der HLM, noch die Hypothermie schwerwiegende mikrozirkulatorische Alterationen verursacht²².

Im Tiermodell wurde hingegen während der HLM eine signifikante Reduktion der FCD im terminalen Ileum beobachtet. Dies konnte unter Anwendung von Dopexamin und Steroiden verhindert werden⁸¹. Studien von Harris und Mitarbeitern zeigten, dass eine Ischämie im Skelettmuskel für 1- 2 Stunden keine signifikante Reduktion der FCD beinhaltete und erst nach einer 4- stündigen Ischämiezeit ein signifikanter Abfall auftrat³³. Nach 4- stündiger Ischämiezeit und 0,5- stündiger Reperfusionsphase konnte in der Hamster- Rückenhautkammer auch in anderen Studien eine signifikante Reduktion der FCD aufgezeigt werden, nicht jedoch bei kürzeren Ischämiezeiten^{65;73;88}.

Die Ischämiezeit, d.h. die Stillstandzeit betrug in unserem Patientenkollektiv 30 Minuten und führte in Folge zu einer signifikanten Reduktion der FCD. Diese Verminderung der Kapillardichte wird auch als postischämisches „no reflow“ Phänomen bezeichnet^{4;64;66;72}. Das Ausmaß der Minderperfusion der Kapillargebiete wurde von uns jedoch möglicherweise unterschätzt, da die Messungen in Gebieten mit erythrozytenperfundierten Kapillaren durchgeführt wurden und durch Ödem und Bewegungsartefakte schwierig beurteilbare Zonen ausgespart wurden. Bei ausgedehnten Ischämie- Reperfusionsschäden berichteten Menger und Mitarbeiter von grossen nicht perfundierten Arealen⁶⁶. Eine automatisierte Analyse der FCD würde diesen systematischen Messfehler in Zukunft vermeidbar machen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Visualisierung der sublingualen Mikrozirkulation unter physiologischen und pathologischen Konditionen möglich war und auch quantitative Daten erhoben werden konnten. Die Parameter erythrozytäre Fliessgeschwindigkeit, venolärer Gefässdurchmesser und funktionelle Kapillardichte wurden bestimmt. Wir konnten zeigen, dass die Mikrozirkulation während Eingriffen an der HLM aufrecht erhalten werden kann. Eingriffe im Kreislaufstillstand zeigten einen signifikanten Abfall der Vel und FCD. Da nach Beendigung der HLM Ausgangswerte erreicht wurden, ist anzunehmen, dass die nutritive Blutversorgung nach HLM und Kreislaufstillstand wieder hergestellt werden kann.

4.3 Nachweis von Mikrozirkulationsstörungen

Die grundlegenden Veränderungen, welche durch die Anwendung der HLM initialisiert werden, sind Veränderung des pulsatilem Blutflusses, Exposition des Blutes an unphysiologische Oberflächenstrukturen und Scherkräfte, Hämodilution, sowie Auslösung einer systemischen Entzündungsreaktion⁵⁰.

4.3.1 Veränderungen des Blutflusses und der Hämodilution

Wir konnten mit OPS imaging die Unterschiede zwischen pulsatilem (T1 und T4) und nicht- pulsatilem Blutfluss (T2 und T3 während HLM) visuell erkennen¹⁴. Wie mit OPS imaging eine nicht-pulsatile Perfusion durch die extrakorporale Zirkulation quantifiziert werden kann ist noch nicht sicher dargelegt. In der Phase der Reperfusion unter physiologischem, pulsatilem Fluss (T4) wies sowohl die erythrozytäre Fliessgeschwindigkeit, als auch die FCD in beiden Gruppen Ausgangswerte auf. In der

späten Phase der HLM war die Vel in Gruppe 1 erhöht und die Vel in Gruppe 2 während der gesamten HLM vermindert. Es stellt sich in diesem Zusammenhang die Frage, ob sich diese mikrozirkulatorischen Alterationen durch eine pulsatile Flussform während HLM mit möglichst enger Annäherung an die physiologische Pulskurve vermeiden ließen. Frühere Studien fanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Techniken. Undar und Mitarbeiter stellten im Tiermodell fest, dass pulsatiler Fluss eine signifikant höhere hämodynamische Energie erzeugt, der myokardiale Fluss erhöht ist und dies einen Vorteil für die Organperfusion darstellen könnte^{98;99}. Zudem wird diskutiert, dass die mikrozirkulatorischen Effekte des pulsatilen Blutflusses zum Offenhalten des Kapillarbettes und durch Erhöhung des Lymphabflusses zur reduzierten Ödembildung im Gewebe führt. Auch Orime und Mitarbeiter konnten eine Reduktion endothelialer Schäden und verminderte Zytokinaktivierung unter pulsatiler HLM nachweisen⁷⁶.

Störungen der Mikrozirkulation können auch durch eine verminderte Verformbarkeit der Erythrozyten verursacht werden. Kameneva und Kirklin zeigten, dass mechanische Alterationen durch die HLM, Hypothermie und Hämodilution zu einer Steifheit der Erythrozyten führen^{49;50}. Wir beobachteten vor allem in Gruppe 2, innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstands eine Verminderung der Vel mit „sludge“ Phänomen der Erythrozyten, d.h. Ausbildung von Mikroaggregaten und eine gestörte Kapillarperfusion mit Verminderung der FCD.

Die Hämodilution wird unter anderem auch durch Gabe des Vorfüllvolumens der HLM verursacht und verbessert über eine Verminderung der Viskosität des Blutes die Mikrozirkulation⁵⁶. In T2 und T3 kam es in Gruppe 1 und Gruppe 2 durch die extrakorporale Zirkulation und Infusion des Vorfüllvolumens der HLM zu einem signifikanten Hb- und Hämatokritabfall (siehe 3.5.2). Da die Vel in T3 in Gruppe 1 erhöht war nahmen wir an, dass u.a auch ein Zusammenhang mit der Hämodilution besteht. Messmer und Mitarbeiter beobachteten, dass eine akute Reduktion des systemischen Hämatokrits während normovolämischer Hämodilution in peripheren Organen mit einer erhöhten Perfusionsrate einher geht⁶⁷. Diese Versuche wurden jedoch nicht unter extrakorporaler Zirkulation durchgeführt und sind somit nicht vergleichbar. Da sich die Fließgeschwindigkeit aus Stromstärke und Gefäßquerschnitt ergibt, erwartet man bei einem Vel-Anstieg eine Zunahme der Stromstärke und/oder eine Abnahme des Gefäßquerschnittes. Das Perfusionsvolumen der HLM wird mit 2,2- 2,5 l/min/m² Körperoberfläche während der HLM relativ konstant gehalten, kann jedoch bis zu 50 % variieren und wird dem Mitteldruck und dem peripheren Gefäßwiderstand angepasst. Eine

weitere mögliche Ursachen der Vel-Zunahme in T3 in Gruppe 1 kann also bei unverändertem Gefäßquerschnitt in einer Erhöhung des Pumpenflusses zur Steigerung des MAP liegen .

Die Werte Vel und Hämatokrit korrelierten nicht miteinander ($r^2 = 0,01$). Die Hämodilution war in beiden Gruppen ausgeprägt. Die Abnahme der Hb-Konzentration betrug in Gruppe 1 –33 % und in Gruppe 2 –39 % in T2 (Tabelle 7, 8, 11 und 12).

Die signifikante Reduktion der FCD innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Stillstands korrelierte mit dem Grad der Hämodilution ($r^2 = 0,95$). Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Harris und Mitarbeitern³⁴.

4.3.2 Veränderungen der Adhäsionsmoleküle und aktivierten Leukozyten

Leukozyten spielen in der Entwicklung eines Ischämie- Reperfusionsschadens eine zentrale Rolle¹⁰⁴. Wir bestimmten Leukozyten, aktivierte Leukozyten und Adhäsionsmoleküle.

Historisch gesehen war die HLM eines der ersten Modelle, welches über die Aktivierung von polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL) eine Erklärung für die Pathogenese des akuten Lungenversagens lieferte. PMNL werden sowohl direkt als auch indirekt durch freigesetzte humorale und zelluläre Mediatoren aktiviert⁹³. Vor diesem Hintergrund war klar, dass PMNL eine wichtige kausale Rolle in der Entstehung von Organdysfunktion nach HLM einnehmen. Moderne Methoden, wie die Analyse der Expression von Adhäsionsmolekülen auf PMNL, sowie OPSimaging in unseren Untersuchungen sollten bessere Einblicke in die pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen Aktivierung von PMNL und dem Ausmass von Mikrozirkulationsstörungen geben.

In einem Mehrstufenmodell kann die Emigration von PMNL aus dem Intravasalraum erklärt werden⁹³. Aus dem Pool zirkulierender Leukozyten rollen einzelne Zellen durch Interaktion von Adhäsionsmolekülen (vorwiegend aus der Familie der L-Selektine, z.B. CD 62L) mit den entsprechenden endothelialen Bindungsliganden entlang des Gefäßendothels. Entzündungsmediatoren aktivieren die PMNL und in Folge werden Adhäsionsmoleküle aus der Familie der β_2 -Integrine (z.B. CD 18) exprimiert, während die L-Selektine proteolytisch von der Zelloberfläche abgetrennt werden. Durch die Interaktion der β_2 -Integrine mit den interzellulären Adhäsionsmolekülen ICAM-1 und ICAM-2 bildet

sich gegenüber den Scherkräften des Blutes ein stabiler Zellkontakt, sogenannte adhärente Zellen aus. Der Adhäsion folgt dann die transendotheliale Diapedese.

Unsere Ergebnisse zeigten einen signifikanter Anstieg der Leukozyten im Blut in der Reperfusionsphase (Tabelle 7). Die aktivierten Leukozyten wiesen in der späten Phase der HLM einen 3- fachen und eine Stunde nach Reperfusion einen 6,6- fachen Anstieg verglichen zum Ausgangswert auf (Tabelle 22). CD 62L blieb vor, während und nach HLM unverändert. CD 18 zeigte eine signifikante Zunahme in der späten Phase der HLM. Die Leukozytenbestimmung im Blut zeigte keine Korrelation mit den Parametern Adhäsionsmoleküle und aktivierte Leukozyten. Weiters fand sich keine Korrelation zwischen rollenden Leukozyten und Adhäsionsmolekül CD 62L, sowie adhärenen Leukozyten und Adhäsionsmolekül CD 18.

Im Mittel konnten wir eine Aktivierung der PMNL durch die HLM nachweisen. Warum diese Aktivierung nur an CD 18 und nicht an CD 62L sichtbar wurde, liegt u.a. daran, dass der Pol zirkulierender Zellen ein Gleichgewicht zwischen aktivierungsbedingten abwandernden Zellen und aus dem Knochenmark frisch mobilisierten und noch nicht aktivierten, einströmenden Zellen darstellt. Diese aus dem Knochenmark naiven Zellen haben eine überproportionale hohe Expression von L-Selektinen. Da aber die Durchflusszytometrie den Mittelwert der L-Selektin-Expression erfasst, blieb die L-Selektin-Expression zu allen Messzeitpunkten unverändert. Erhöhte Konzentrationen der Adhäsionsmoleküle CD 18 wurden auch von anderen Gruppen sowohl in tierexperimentellen^{20;21} als auch klinischen Studien⁷⁸ nachgewiesen. Warum CD 18 in T4 nicht weiter ansteigt, liegt möglicherweise an der nach HLM verminderten Produktion von inflammatorischen Stimuli und der verstärkten Sequestration der PMNL in den postkapillären Venolen.

Die Durchflusszytometrie erfasst nur die Aktivierung der in der Zirkulation befindlichen Zellen. Es kann keine Aussage über die lokalen Veränderungen der Mikrozirkulation und der Zellen, welche im Begriff sind ins Gewebe auszuwandern getroffen werden. Daher haben wir OPS imaging benutzt um weiteren Aufschluss über die Interaktion zwischen Leukozyten und Endothel zu erhalten. Auch hier bestätigte sich über einen signifikanten Anstieg der aktivierten Leukozyten in T3 und T4 die Annahme der Initialisierung einer inflammatorischen Reaktion. Da die aktivierten Leukozyten nicht wie bei der Intravitalmikroskopie mit Rhodamin G 6 markiert werden können, ist die Auswertung mit OPS imaging sehr viel schwieriger^{14;15}. Die aktivierten Leukozyten erscheinen als eine helle Aussparung zwischen der dunklen Erythrozytensäule. Sie fließen im Gefäß

langsamer als der Erythrozytenstrom bzw. sind am Gefäßendothel adhären³⁵. Eine Differenzierung zwischen rollenden Leukozyten und Plasmalücken ist häufig schwierig und wird durch Hämodilution mit Kontrastreduktion erschwert¹⁴. Wir konnten daher sicher nicht alle aktivierten Leukozyten mit OPS imaging identifizieren. Diese Beobachtungen sind in guter Übereinstimmung mit Daten anderer Studien¹⁰⁴.

4.3.3 Leukozytenmigration und „capillary leak“ Syndrom

Eine erhöhte Permeabilität der Endothelbarriere der Gefäßstrombahn mit Flüssigkeitsaustritt („capillary leak“ Syndrom) ist mittels OPS imaging nur indirekt durch die Visualisierung von Zellödem und Leukozytenadhäsion nachweisbar.

Die Möglichkeit eines direkten Nachweises der Leukozytenmigration und des „capillary leak“ Syndroms sind mit Intravitalmikroskopie und Anwendung von Fluoreszenzfarbstoffen möglich^{33;68}. Die erhöhte Gefäßpermeabilität wird durch Extravasation von FITC- Dextran (Fluorescein Isocyanat markiertes Dextran) sichtbar und mittels Densitometrie gemessen^{33;68}. Obwohl wir keine Möglichkeit hatten das „capillary leak“ Syndrom mit OPS imaging zu quantifizieren und nur indirekt die Zunahme des Gewebeödems, vor allem nach Kreislaufstillstand und in der späten Phase der HLM erkannten, stehen andere Studien in Einklang mit dieser Beobachtung. Kirklin und Mitarbeiter haben mittels Ultrafiltration eine Erhöhung der mikrovaskulären Gefäßpermeabilität für Proteine bereits nach 2- stündiger Bypasszeit nachweisen können⁵⁰. Heltne und Mitarbeiter untersuchten tierexperimentell die Einflüsse der Körpertemperatur während HLM auf die Flüssigkeitsextravasation. Sie beobachteten während Hypothermie im Gegensatz zu normothermen Eingriffen eine verstärkte Flüssigkeitsextravasation, die eine erhöhte intravenöse Flüssigkeitsgabe notwendig machte^{38;39}. Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen stehen Ergebnisse von Tassani und Mitarbeitern⁹¹, welche das „capillary leak“ Syndrom am Patienten mit „Evans blue“ Farbstoffen nicht nachweisen konnten. Auch Eising und Mitarbeiter konnten tierexperimentell kein „capillary leak“ Syndrom nachweisen²³.

Zusammenfassend können wir sagen, dass die Veränderungen der Mikrozirkulation unter HLM und Stillstand mittels OPS imaging erfasst werden konnten. Wie mit OPS imaging eine Hämodilution und eine nicht-pulsatile Perfusion durch die extrakorporale Zirkulation quantifiziert werden kann ist noch nicht dargelegt und aus den in dieser Studie vorgelegten Daten nicht sicher abzuleiten. Es konnte lediglich durch die Veränderung des Blutflusses,

die erhöhte Rigidität der Erythrozyten und die Aktivierung der Leukozyten vor allem innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Stillstands eine Heterogenität der Perfusion, eine Verminderung der Vel mit Bildung von Mikroaggregaten und eine reduzierte FCD beobachtet werden. Aufgrund des Anstiegs der Leukozyten (in T4), der aktivierten Leukozyten (in T3 und T4) und des Adhäsionsmoleküls CD 18 (in T3) bestätigte sich die Annahme der Initialisierung einer inflammatorischen Reaktion durch die HLM.

4.4 Veränderungen der mikrozirkulatorischen Parameter in Abhängigkeit von der Dauer der extrakorporalen Zirkulation und des Kreislaufstillstands

Wir konnten keine signifikante Korrelation zwischen Veränderungen der FCD und der Dauer der HLM ($r^2 = 0,01$) finden. Auch der venoläre Gefässdurchmesser korrelierte nicht mit der Dauer der HLM ($r^2 = 0,19$). In Gruppe 2 wurde auf die Erstellung einer Korrelation aufgrund der zu geringen Fallzahl von 5 Patienten verzichtet.

4.5 Veränderungen der mikrozirkulatorischen Parameter in Abhängigkeit von der Hypothermie

Hypothermie erhöht die Blutviskosität⁵⁰. Durch Hämodilution wird der Hämatokrit während HLM auf Werte zwischen 17- 30 % reduziert (Tabelle 7 und 8) und dadurch die Blutviskosität vermindert. Aufgrund der signifikanten Veränderungen der Körpertemperatur während den verschiedenen Messzeitpunkten stellt sich die Frage nach Korrelation der Werte mit den mikrozirkulatorischen Parametern erythrozytäre Fließgeschwindigkeit, venolärer Gefässdurchmesser und Funktionelle Kapillardichte.

In Gruppe 1 korrelierten die genannten mikrozirkulatorischen Parameter nicht mit der Körpertemperatur. In Gruppe 2 wurde aufgrund der geringen Fallzahl auf eine Korrelation verzichtet.

Zahlreiche Gruppen konnten die protektiven Effekte der Hypothermie unter extrakorporaler Zirkulation nachweisen^{71;100;102}. Auch in unserer Studie konnten wir zeigen, dass nach HLM und Kreislaufstillstand, eine Stunde nach Reperfusion wieder Initialwerte der mikrozirkulatorischen Parameter vorlagen.

Nathan und Mitarbeiter zeigten, dass eine moderate Hypothermie von 32°C neuroprotektive Effekte während herzchirurgischer Eingriffe hat⁷¹. Moderate Hypothermie reduziert während koronarer Bypass- Operation auch myokardiale Zellschäden¹⁰⁰. In Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen stehen die Ergebnisse von Wagner und Mitarbeitern. Diese konnten während normothermen HLM- Eingriffen im Gegensatz zu

Hypothermie erhöhte Laktatkonzentrationen, eine erhöhte Anzahl von adhären Leukozyten und eine reduzierte FCD beobachten¹⁰².

Birdi und Mitarbeiter hingegen wiesen nach, dass die Hypothermie keinen protektiven Einfluss auf eine systemische inflammatorische Reaktion hat und auch unter hypothermer Bypass- Operation eine profunde Reaktion auftritt^{7;26}.

Wir konnten zeigen, dass trotz Wiederherstellung der Mikrozirkulation, durch HLM eine systemische Entzündungsreaktion mit Leukozytenaktivierung und Expression von Adhäsionsmolekülen ausgelöst wird.

4.6 Diagnostisches Potential von OPS imaging hinsichtlich Ischämie-

Reperfusionsschaden und SIRS

Die Veränderungen der Makro- und Mikrozirkulation unter HLM führen ebenso wie das chirurgische Trauma zu Komplementaktivierung, Freisetzung von Zytokinen, Leukozytenaktivierung mit Expression von Adhäsionsmolekülen und zur Produktion inflammatorischer Mediatoren, welche Komplikationen, wie SIRS und Ischämie-Reperfusionsschäden auslösen können^{52;70;80;81;90;104}.

Das Monitoring dieser Studie umfasste nicht alle Parameter, welche Hinweise auf eine Initialisierung der inflammatorischen Kaskade und einen Ischämie- Reperfusionsschaden geben. Wir konnten neben den mikrozirkulatorischen Parametern, die Adhäsionsmoleküle und aktivierten Leukozyten erfassen. Als Folge der HLM und des Kreislaufstillstandes konnten wir mittels OPS imaging Leukozyten- Endothelzellaktivierung und Alterationen der Mikrozirkulation während der HLM nachweisen.

Der Ischämie- Reperfusionsschaden kann Manifestation einer akuten inflammatorischen Reaktion sein, initialisiert durch überlappende Kaskaden inflammatorischer Mediatoren¹¹. Aktivierte Leukozyten spielen eine frühe wichtige Rolle für die Initialisierung eines Gewebeschadens über Freisetzung lokal schädigender Substanzen¹⁰⁴. Mittels OPS imaging konnten wir aktivierte Leukozyten quantifizieren und somit eindeutige Hinweise auf die Initialisierung einer inflammatorischen Reaktion durch die HLM erbringen.

Dies wurde auch von anderen Gruppen berichtet und unterstützt die Annahme eines Ischämie- Reperfusionsschaden durch HLM und Stillstand^{11;38;39}. Auch konnte eine Reduktion der FCD und eine Verlangsamung der Vel nach Beendigung des Stillstandes mit Visualisierung von Mikrothromben und Blutstase mit OPS imaging ermittelt werden.

Wir konnten mit dieser Studie die Veränderungen der Mikrozirkulation unter HLM quantifizieren. Das diagnostische Potential dieses Gerätes zur Erkennung von Veränderungen im Sinne einer systemischen inflammatorischen Reaktion und eines Ischämie- Reperfusionsschadens konnte nachgewiesen werden.

4.7 Limitationen von OPS imaging und Verbesserungen für Folgestudien

Wie bereits erläutert, sind Druck- und Bewegungsartefakte ein grosses Problem in der Anwendung dieser Technik. Bewegungsartefakte von Seiten des Anwenders und des Patienten beeinträchtigen die Qualität der Mikrozirkulationsbilder, erfordern die wiederholte Korrektur der Lage der Sondenspitze und erneute Fokussierung. Dadurch wird die Auswertung der Daten erschwert. Durch den Sondendruck können Gefässe komprimiert, die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit vermindert und die FCD durch scheinbar nicht-perfundierte Areale unterschätzt werden. Eine objektive Kontrollmöglichkeit des Sondendrucks stand uns nicht zur Verfügung. Ein Lösungsansatz für Druck- und Bewegungsartefakte wurde nun von Pries und Mitarbeitern erarbeitet⁵⁸. Alternativ zum Videobildanalysesystem Cap Image gibt es zeitsparende neue Auswerteverfahren, welche auch die Messung der erythrozytären Fliessgeschwindigkeit in Arteriolen ermöglichen^{58;77;83}.

Ein weiteres Problem der klinischen Anwendung besteht in der fraglichen Vergleichbarkeit der Daten zu unterschiedlichen Messzeitpunkten. Identische Gefässe können bisher aufgrund Gefässvariabilität und Grösse des sublingualen Mikrozirkulationsbettes, nicht gezielt zu den verschiedenen Messzeitpunkten identifiziert werden, wie dies im Tiermodell zum Beispiel durch die Hamster- Rückenhautkammer möglich ist^{31;32;36;74}. Für die klinische Anwendung müssen daher wesentlich mehr Daten ermittelt werden, um eine statistische Signifikanz zu erhalten.

Eine Limitation dieser Technik besteht auch in der fehlenden Möglichkeit der Quantifizierung der Gefässendothelschädigung mit erhöhter mikrovaskulärer Gefässpermeabilität und Ödembildung („capillary leak“ Syndrom), sowie der Leukozytenemigration. Diese Parameter sind wichtige zusätzliche Hinweise auf die Initialisierung einer inflammatorischen Reaktion und eines Ischämie-Reperfusionsschadens. Auch die manuelle Zählung der rollenden und adhärenenten Leukozyten muss automatisiert werden, damit OPS imaging als diagnostisches Gerät in der Klinik Anwendung finden kann.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass mittels OPS imaging Mikrozirkulationsstörungen nachgewiesen werden können. In der zur Zeit vorliegenden Version bedarf es für den klinischen Einsatz noch weiterer Entwicklungen. Erstrebenswert ist sicherlich die Entwicklung einer Software, welche on- line die mikrozirkulatorischen Daten auswerten kann und somit unmittelbar Rückschlüsse auf die Mikrozirkulation erlaubt .

5. Zusammenfassung

Die moderne Ära der Herzchirurgie begann mit der Einführung der Herz- Lungen-Maschine in den frühen 50er Jahren. Die grundlegenden Veränderungen, welche durch die Anwendung der HLM initialisiert werden, sind Veränderung des pulsatischen Blutflusses, Exposition des Blutes an unphysiologische Oberflächenstrukturen und Scherkräfte, sowie Auslösung einer überschüssenden systemischen inflammatorischen Reaktion. Die Perfusion wird auch durch Hämodilution und Hypothermie beeinflusst. Diese Veränderungen haben nicht nur makrohämodynamische Auswirkungen, sondern beeinflussen auch die Mikrozirkulation.

Zum Monitoring der Mikrozirkulation wurde von unserer Arbeitsgruppe OPS imaging, eine neue Technik, welche mit polarisiertem Licht und Epi- Illumination ohne Einsatz von Fluoreszenzfarbstoffen arbeitet, eingesetzt. Im Mittelpunkt unseres Interesses stand die Frage nach Anwendbarkeit und Praktikabilität, sowie Sicherheit und diagnostischem Potential von OPS imaging. Da wir insbesondere nach Eingriffen im Kreislaufstillstand tiefgreifende mikrozirkulatorische Veränderungen erwarteten, unterteilten wir die Studiengruppe in 27 Patienten mit koronarer Bypassoperation bzw. Herzklappenersatz ohne Kreislaufstillstand (Gruppe 1) und in 5 Patienten mit Operationen im Kreislaufstillstand (Gruppe 2). In tiefer Hypothermie (28- 16°C) und im Kreislaufstillstand werden Operationen von Aneurysmen des Aortenbogens operiert. Es wurden erythrozytäre Fliessgeschwindigkeit (Vel), venolärer Gefässdurchmesser (Dia) und Funktionelle Kapillardichte (FCD) zu 4 bzw. 5 verschiedenen Zeitpunkten bestimmt.

Mittels OPS imaging konnten die ersten Mikrozirkulationsbilder der veränderten Perfusion unter Herz- Kreislaufstillstand und extrakorporaler Zirkulation erhoben werden. Wir konnten zeigen, dass die Mikrozirkulation während Eingriffen an der HLM aufrecht erhalten wird. In Gruppe 1 stieg die Vel lediglich in der späten Phase der HLM signifikant an. Bei Eingriffen im Kreislaufstillstand (Gruppe 2) zeigte sich ein signifikanten Abfall der Vel während der gesamten Messperiode unter extrakorporaler Zirkulation. Eine dramatische Reduktion der Vel um 74,6 % wurde in T after CA beobachtet. Da nach Beendigung der HLM Ausgangswerte erreicht wurden, ist anzunehmen, dass die nutritive Blutversorgung nach HLM und Kreislaufstillstand wieder hergestellt werden kann. Da während unkomplizierter HLM lediglich moderate Veränderungen der Vel, bei Eingriffen im Kreislaufstillstand aber eine signifikante Verminderung der Vel auftraten, müssen verschiedene Ursachen diskutiert werden. Eine entscheidende Rolle spielt die tiefe Hypothermie in Gruppe 2 mit Senkung der Körpertemperatur auf durchschnittlich 16,5°C

während des Stillstandes. In der Phase der Wiedererwärmung konnte eine rasche Erholung auf Initialwerte beobachtet werden. Auch die signifikante Verminderung des mittleren arteriellen Drucks während der HLM in beiden Gruppen, ausgeprägter jedoch in Gruppe 2 hat Einflüsse auf die Mikrozirkulation. Der Druckabfall mit Beginn der extrakorporalen Zirkulation wird durch eine Verminderung des systemischen Gefäßwiderstands, bedingt durch eine erniedrigte Blutviskosität infolge Hämodilution, Dilution zirkulierender Katecholamine und temporärer Hypoxämie, verursacht. Die Hämodilution war in beiden Gruppen ausgeprägt. Die Abnahme der Hb-Konzentration betrug in Gruppe 1 –33 % und in Gruppe 2 –39 % (in T2).

Es zeigte sich weder in Gruppe 1, noch Gruppe 2 eine signifikante Veränderung des postkapillären Venolendurchmessers. Die FCD, als Indikator für den nutritiven Blutfluss war in Gruppe 1 unverändert. In Gruppe 2 mit Eingriffen im Kreislaufstillstand konnte ein signifikanter Abfall der FCD innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstandes auf 23 %, verglichen zum Ausgangswert beobachtet werden. Da die FCD in beiden Gruppen nach Beendigung der HLM Ausgangswerte zeigte, ist anzunehmen, dass die nutritive Blutversorgung sowohl nach unkomplizierter HLM, als auch nach Eingriffen im Kreislaufstillstand wieder hergestellt werden kann.

Wir konnten in Übereinstimmung mit anderen Gruppen zeigen, dass durch die HLM eine systemische Entzündungsreaktion mit Leukozytenaktivierung und Expression von Adhäsionsmolekülen ausgelöst wird. In 8 Patienten der Gruppe 1 wurden die aktivierten Leukozyten und die Adhäsionsmoleküle CD 18 und CD 62L bestimmt. Die aktivierten Leukozyten wiesen in der späten Phase der HLM einen 3- fachen und eine Stunde nach Reperfusion einen 6,6- fachen Anstieg verglichen zum Ausgangswert auf. Die Adhäsionsmoleküle CD 62L zeigten keine signifikanten Veränderungen. CD 18 stieg in der späten Phase der Reperfusion um 31 % an. Es fand sich keine Korrelation zwischen rollenden Leukozyten und Adhäsionsmolekül CD 62L, sowie adhärenenten Leukozyten und Adhäsionsmolekül CD 18. Auch in Gruppe 2 konnten wir Hinweise für einen Ischämie-Reperfusionsschaden finden. Wir konnten ein Laktatanstieg in T3 und T4 und ein Gewebeödem als indirekter Hinweis auf eine erhöhte Permeabilität der Endothelbarriere mit „capillary leak“ Syndrom erkennen. Durch die Veränderung des Blutflusses während HLM und die erhöhte Rigidität der Erythrozyten beobachteten wir vor allem innerhalb 10 Minuten nach Reperfusion eine Heterogenität der Perfusion, eine Verminderung der Vel mit Bildung von Mikroaggregaten und eine reduzierte FCD. Diese Verminderung der FCD wird auch als postischämisches „no reflow“ Phänomen bezeichnet.

Wir konnten mit Ausnahme von Hämatomen an der Mundschleimhaut, welche durch die Heparinisierung unter HLM auftraten, keinerlei Nebeneffekte beobachten. Es konnten qualitativ hochwertige Bilder der sublingualen Mikrozirkulation erhoben werden, wobei die Bildqualität durch Bewegungsartefakte, Substanzen wie Blut und Speichel, Hämodilution und Zellödem eingeschränkt wird. Druck- und Bewegungsartefakte erfordern die wiederholte Lagekorrektur des Geräts und erneute Fokussierung. Durch den Sondendruck können Gefässe komprimiert, die Vel vermindert und die FCD durch scheinbar nicht-perfundierte Areale unterschätzt werden. Ein Lösungsansatz für Druck- und Bewegungsartefakte wurde von Pries und Mitarbeitern erarbeitet. Alternativ zum Videobildanalysesystem Cap Image gibt es zeitsparende neue Auswerteverfahren, welche auch die Messung der erythrozytären Fliessgeschwindigkeit in Arteriolen ermöglichen. Ein weiteres Problem der klinischen Anwendung besteht in der fraglichen Vergleichbarkeit der Daten zu unterschiedlichen Messzeitpunkten. Identische Gefässe können bisher aufgrund von Gefässvariabilität und Grösse des sublingualen Mikrozirkulationsbettes nicht gezielt wie im Tiermodell zu den verschiedenen Messzeitpunkten identifiziert werden. Für die klinische Anwendung müssen daher wesentlich mehr Daten ermittelt werden, um eine statistische Signifikanz zu erhalten. Eine Limitation dieser Technik besteht auch in der fehlenden Möglichkeit der Quantifizierung der Gefässendothelschädigung und Ödembildung („capillary leak“ Syndrom), sowie der Leukozytenmigration. Diese Parameter sind wichtige zusätzliche Hinweise auf die Initialisierung einer inflammatorischen Reaktion und eines Ischämie-Reperfusionsschadens. Auch die von uns durchgeführte manuelle Zählung der rollenden und adhärenen Leukozyten muss automatisiert werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass wir mit OPS imaging Mikrozirkulationsstörungen, hervorgerufen durch HLM und Kreislaufstillstand nachweisen konnten. Eine Korrelation zwischen Hypothermie, Dauer der HLM und Dauer des Kreislaufstillstands und Vel, DIA und FCD konnte nicht nachgewiesen werden. Veränderungen im Sinne einer systemischen inflammatorischen Reaktion und eines Ischämie-Reperfusionsschadens konnten mittels OPS imaging visualisiert werden. In der zur Zeit vorliegenden Version bedarf es noch weiterer Entwicklungen. Erstrebenswert ist sicherlich eine verbesserte Software, welche on-line die mikrozirkulatorischen Daten auswerten kann und somit unmittelbar Rückschlüsse auf die Mikrozirkulation erlaubt.

6. Bildmaterial

Abbildung 1: Einverständniserklärung


Klinikum der Universität München

Klinik für Anaesthesiologie

Großhadern – Innenstadt

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Klaus Peter

Ludwig-_____
Maximilians-_____
Universität ____
München ____



PD Dr. Frank Christ • Klinik für Anaesthesiologie – Großhadern
Marchioninistraße 15 • D-81377 München

Leiter der Studie

Priv. Doz. Dr. med. Frank Christ

Tel.: 089-7095 3416

München, den _____

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

bei Ihnen ist in den nächsten Tagen eine herzchirurgische Operation geplant, bei der eine Herz-Lungen-Maschine zur Erhaltung Ihrer Kreislauffunktion notwendig ist. Beim Einsatz der Herz-Lungen-Maschine kommt es zu Veränderungen der kleinsten Blutgefäße im Körper, welche bisher nur unzureichend untersucht sind. Um die Sicherheit dieses Verfahrens noch weiter zu verbessern ist es wichtig, nähere Informationen über die Qualität der Blutgefäße zu erhalten.

In einer klinischen Beobachtungsstudie möchten wir untersuchen, ob es im Rahmen der Bypass-Operation zu Störungen der Haut- und Schleimhautdurchblutung kommt. Wir werden dazu kurz einen kleinen Messfühler auf die Haut oder Schleimhaut des Mundes aufbringen. Dieses Verfahren gibt Aufschluss über die Durchblutung der Gefäße und den Blutfluss durch eine direkte Darstellung auf einem Videomonitor. Die verwendeten Lichtquellen werden seit Jahrzehnten bei allen Patienten angewandt und sind unschädlich.

Diese Untersuchungen sind mit keinem Risiko verbunden und dauern ungefähr 10 bis 15 Minuten. Wir führen sie vor und nach der Operation, sowie mehrfach während der Narkose durch. Während der Narkose wird Ihnen 3 Mal 2 ml Blut aus einem der bereits vorhandenen Katheter entnommen. Darin wird die Anzahl der weißen Blutkörperchen bestimmt und mit dem Ergebnis der mikroskopischen Messungen an der Schleimhaut verglichen. Die medizinisch notwendige Behandlung wird durch diese Untersuchungen nicht verändert oder verzögert. Die Erkennung einer Störung der Hautdurchblutung kann für Sie jedoch von Nutzen sein, da Sie uns eine besser abgestimmte Therapie ermöglichen kann.

Selbstverständlich entstehen Ihnen bei einer Nichtteilnahme keinerlei Nachteile, auch können Sie Ihre Einwilligung zu jedem Zeitpunkt widerrufen. Sollten Sie noch weitere Fragen haben, so wenden Sie sich bitte an uns.

Hiermit erkläre ich mich mit der Teilnahme an der klinischen Studie über Veränderung der Schleimhautdurchblutung während herzchirurgischer Eingriffe einverstanden.

Die Studie wurde mir von Frau Schaudig ausführlich erklärt und ich habe keine weiteren Fragen bezüglich der Durchführung dieser Untersuchung. Ich bin damit einverstanden, dass diese Daten in anonymisierter Form für wissenschaftliche Zwecke verwendet werden dürfen.

Patient/in

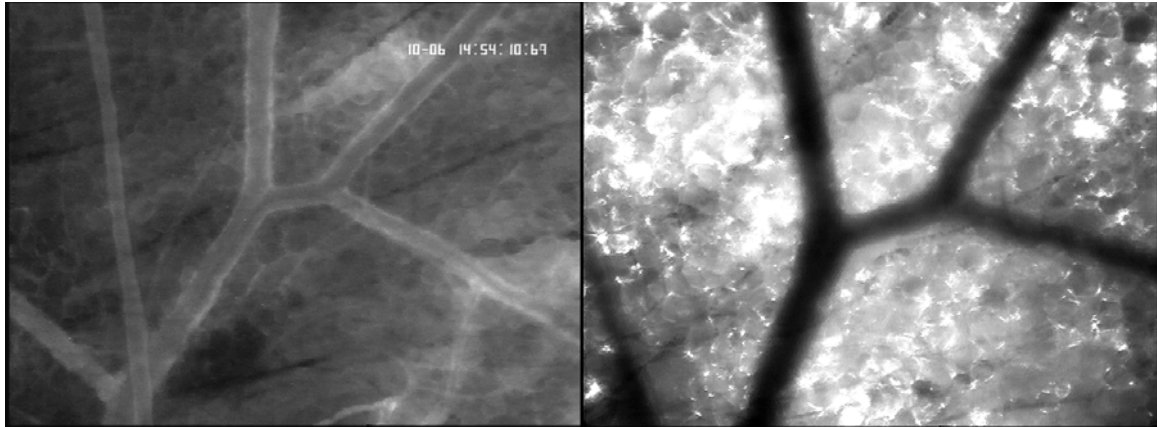
.....

(Unterschrift)



Abbildung 2

Postkapilläre Venolen (Reperfusion)



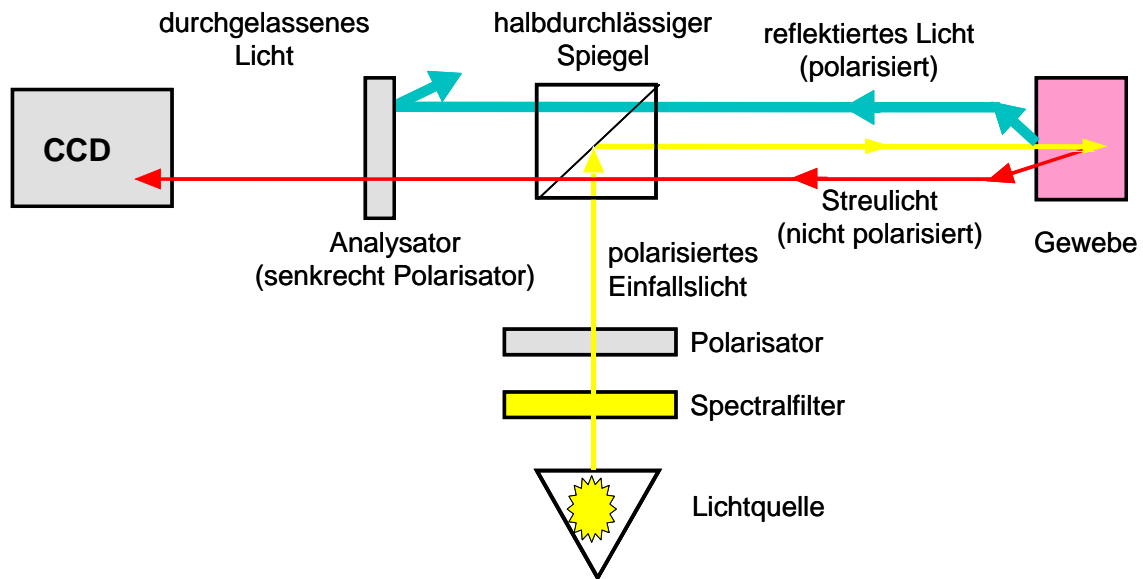
IVM

CYTOSCAN™

Abbildung 2: Darstellung der Mikrozirkulation im Tiermodell (Rückenhautkammer, Syrischer Goldhamster) Vergleich identischer postkapillärer Venolen mittels Intravitalmikroskop (IVM) mit Anwendung von FITC- Dextran zur Kontrastgebung und Cytoscan™ ohne Kontrastmittel.

Abbildung 3

Orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung (OPS™ Imaging)



Nach Groner et. al. Nature Medicine, 1999

Abbildung 3: Funktionsprinzip von OPS Imaging Weißes Licht wird durch einen Polarisator geschickt, der orthogonal zur Lichtquelle angeordnet ist. Dieser besteht aus einem Spektralfilter, welcher Licht einer bestimmten Wellenlänge (548 nm) isoliert und linear polarisiert. Das polarisierte Licht wird über die Scheibe eines halbdurchlässigen Spiegels orthogonal (im 90° Winkel) auf das zu untersuchende Gewebe geworfen. Das auf das Gewebe fallende Licht wird z.T. an der Oberfläche reflektiert und z.T. im Gewebe gestreut und depolarisiert. Das zur Bildgebung beitragende depolarisierte Licht wird dann von einem Analysator gesammelt und an eine „Charge Coupled Device“ (CCD) Videokamera weitergeleitet. Das an der Oberfläche reflektierte Licht trägt nicht zur Bildgebung bei und wird vom Analysator abgefiltert.

Abbildung 4



Abbildung 4: Das Cytoscan™ A/R besteht aus einer Basiseinheit (links) mit einer Haltevorrichtung für die OPS imaging Sonde (Cytometrics, Inc., Philadelphia, PA, USA). Die Sonde ist mit einer externen Lichtquelle (rechts) verbunden. Diese Lichtquelle produziert weißes Licht, welches durch einen Polarisator in linear polarisiertes Licht einer Wellenlänge von 548 nm umgewandelt wird. Die Sondenspitze wird auf die sublinguale Mundschleimhaut aufgesetzt und während der Messung durch eine sterile Schutzkappe geschützt.

Abbildung 5

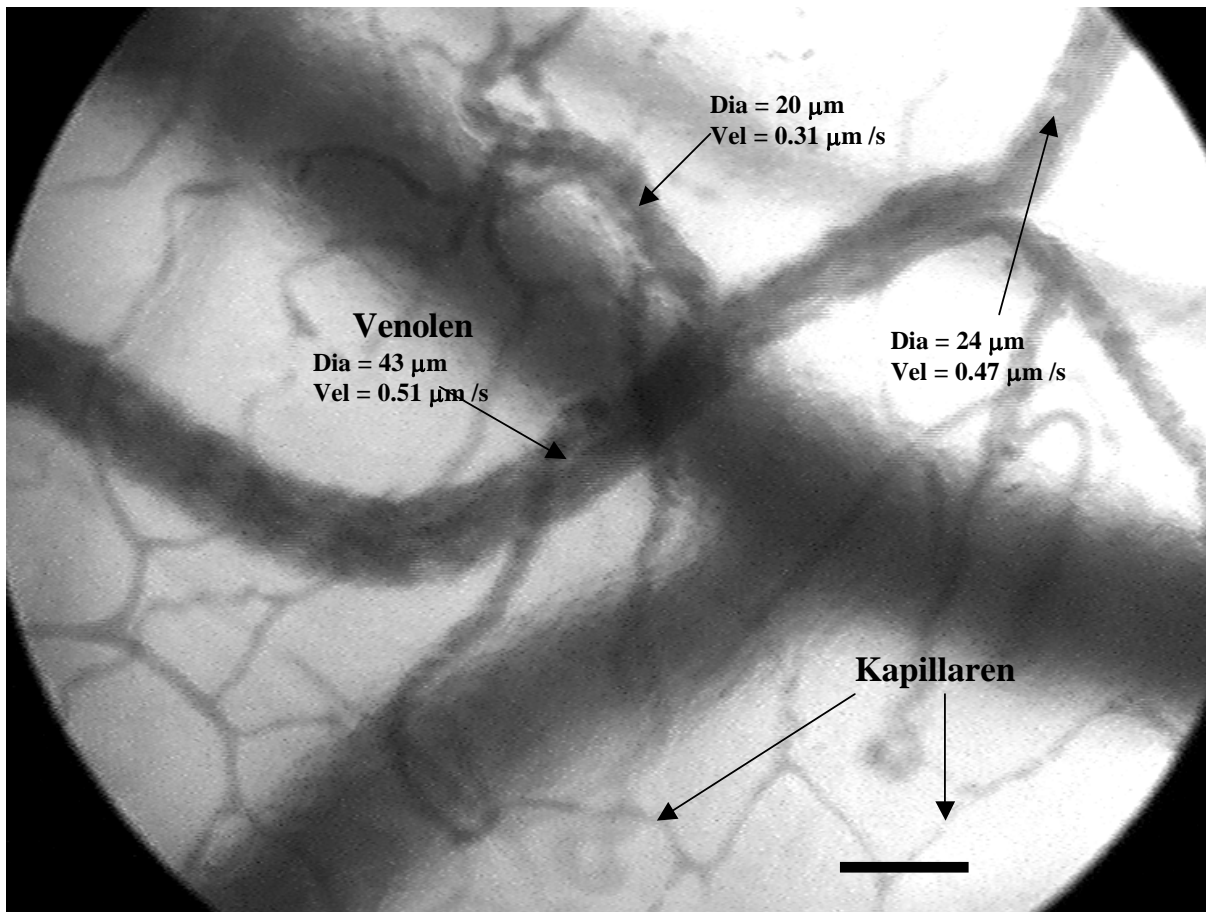


Abbildung 5: Ein typisches OPS imaging- Bild der sublingualen Mikrozirkulation. (Ausschnitt mit ca. 1 mm Durchmesser, Eichmarke 100 μm) Man kann postkapilläre Venolen und Kapillaren sehen. Die Messung erfolgte nach Narkosebeginn, in T1. Die Hb-Konzentration betrug 10,3 g/dl und der Hämatokrit 29,3 %. Es wird die erythrozytäre Flussgeschwindigkeit (Vel) und der Durchmesser (Dia) der postkapillären Venolen angegeben.

Abbildung 6

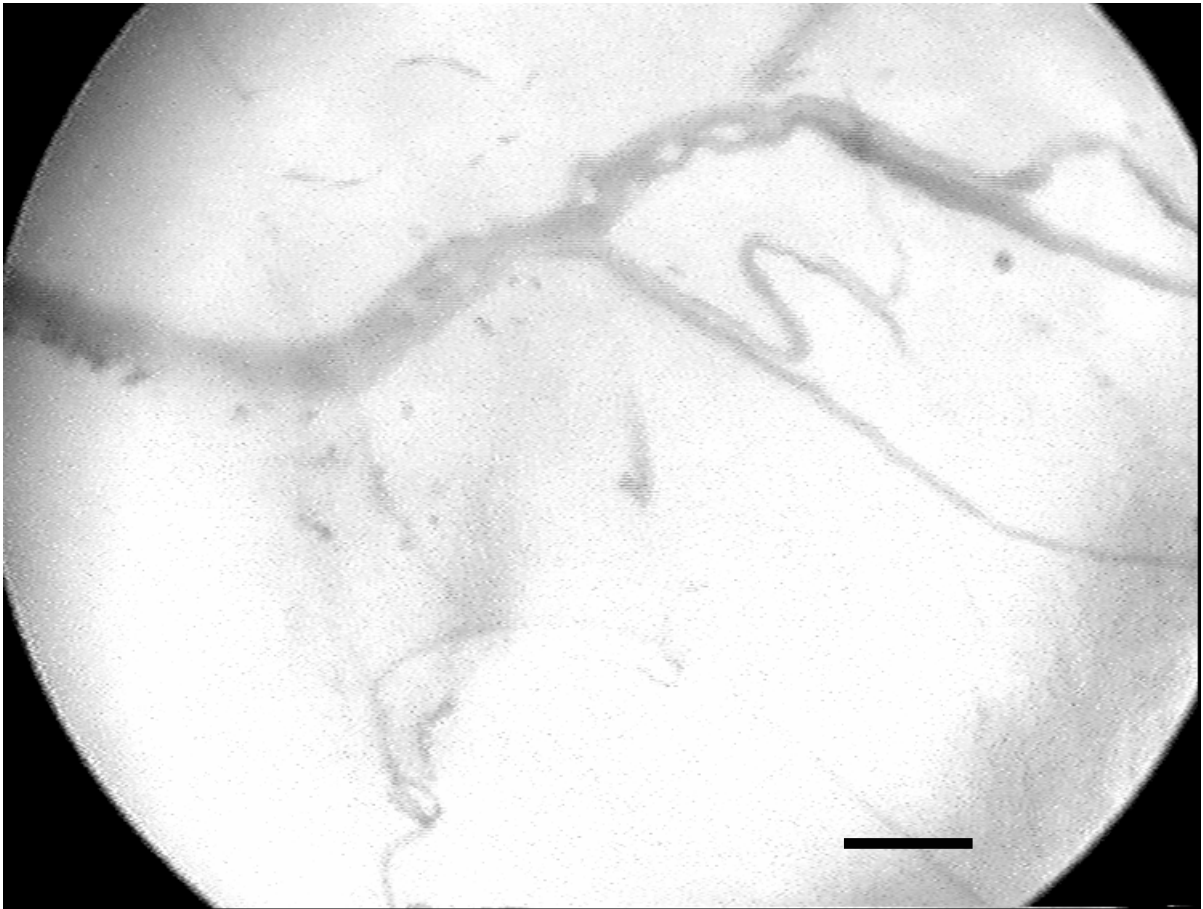
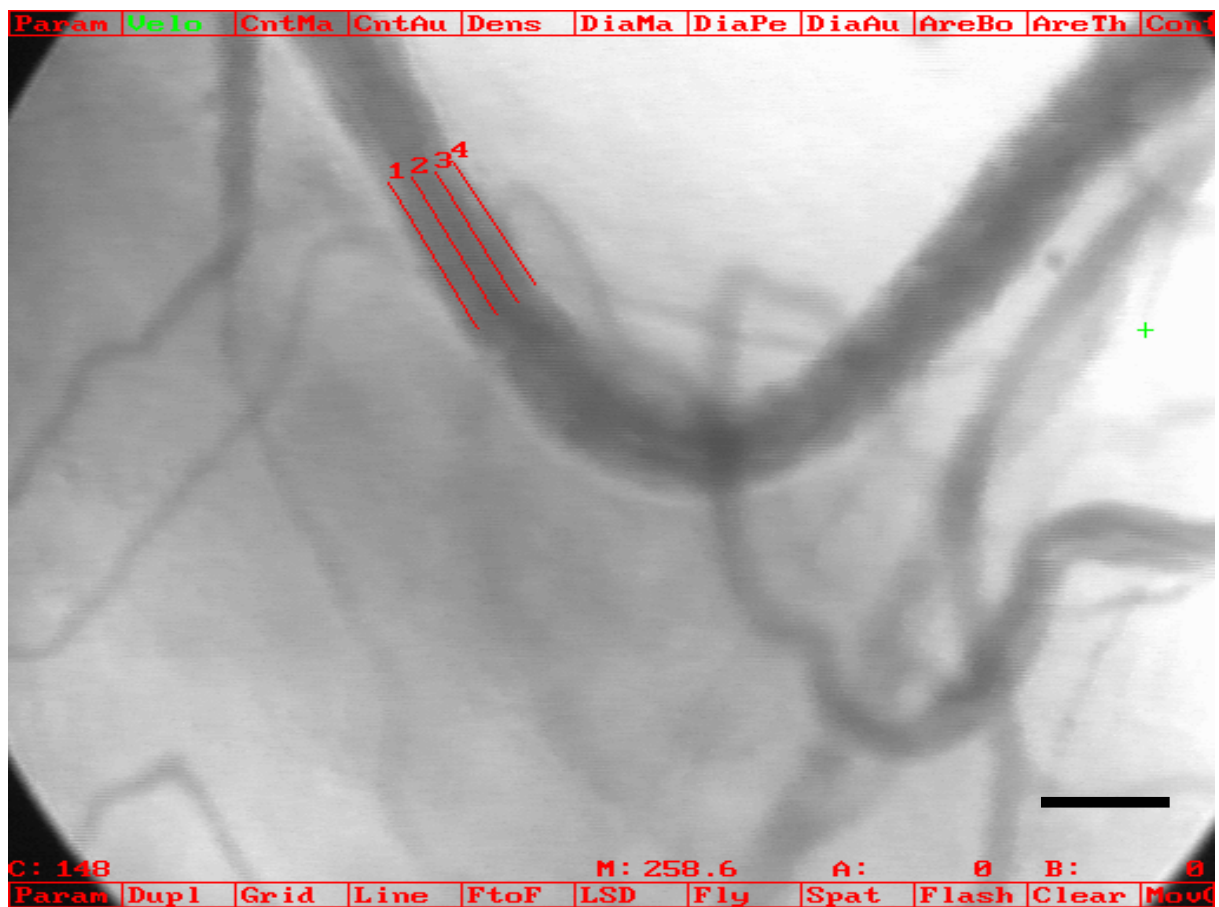


Abbildung 6: Rollende und adhärenente Leukozyten in postkapillären Venolen eine Stunde nach Reperfusion, in T4. Diese erscheinen als helle Aussparungen zwischen den Erythrozyten. Am bewegten Bild können sie erkannt werden, da sie im Gefäß langsamer als der Erythrozytenstrom fließen, bzw. am Gefäßendothel adhärenent sind. Der Hb- Wert betrug 8,4 g/dl in T4.

Ausschnitt der sublingualen Mikrozirkulation mit ca. 1 mm Durchmesser, Eichmarke 100 µm

Abbildung 7



7: Messung der erythrozytären Fließgeschwindigkeit in postkapillären Venolen mittels Cap Image. Ausschnitt der sublingualen Mikrozirkulation mit ca. 1 mm Durchmesser, Eichmarke 100 μm . Es werden Messlinien in die Gefäßmitte der postkapillären Venolen eingezeichnet und die Fließgeschwindigkeit mittels Line Shift Diagramm ermittelt. Während der Messung werden die Grauwertdaten entlang der Messlinie gelesen.

Abbildung 8

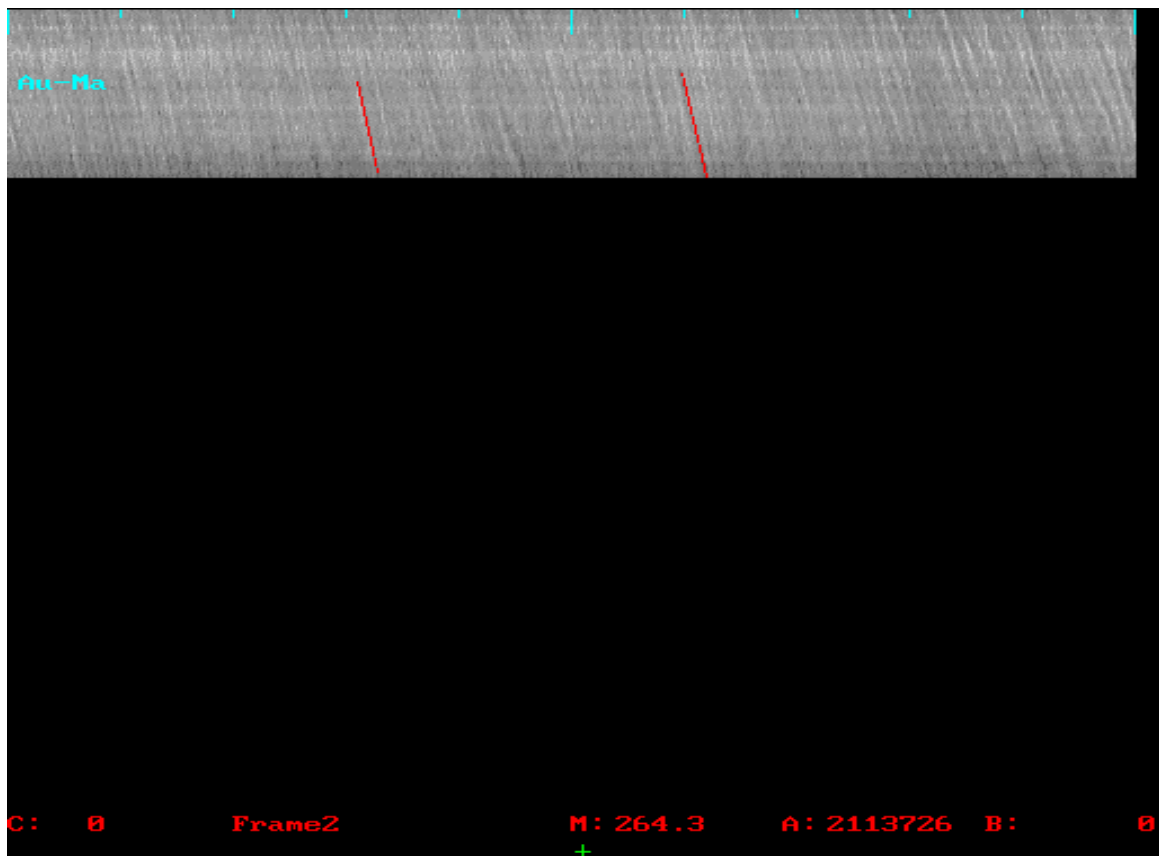


Abbildung 8: Darstellung eines Line Shift Diagramms.

Durch Anklicken dieser schrägen Linien wird automatisch deren Steigung ermittelt (die Y- Achse repräsentiert die Distanz entlang der Linie und die X- Achse entspricht der Zeit) und daraus die Geschwindigkeit in mm/sec berechnet. Bewegt sich während der Messsequenz eine helle Plasmalücke entlang der Messlinie so wird die Fortbewegung im Diagramm als helle, schräg verlaufende Linie sichtbar. Erythrozyten hingegen werden als dunkle Linien abgebildet.

Abbildung 9

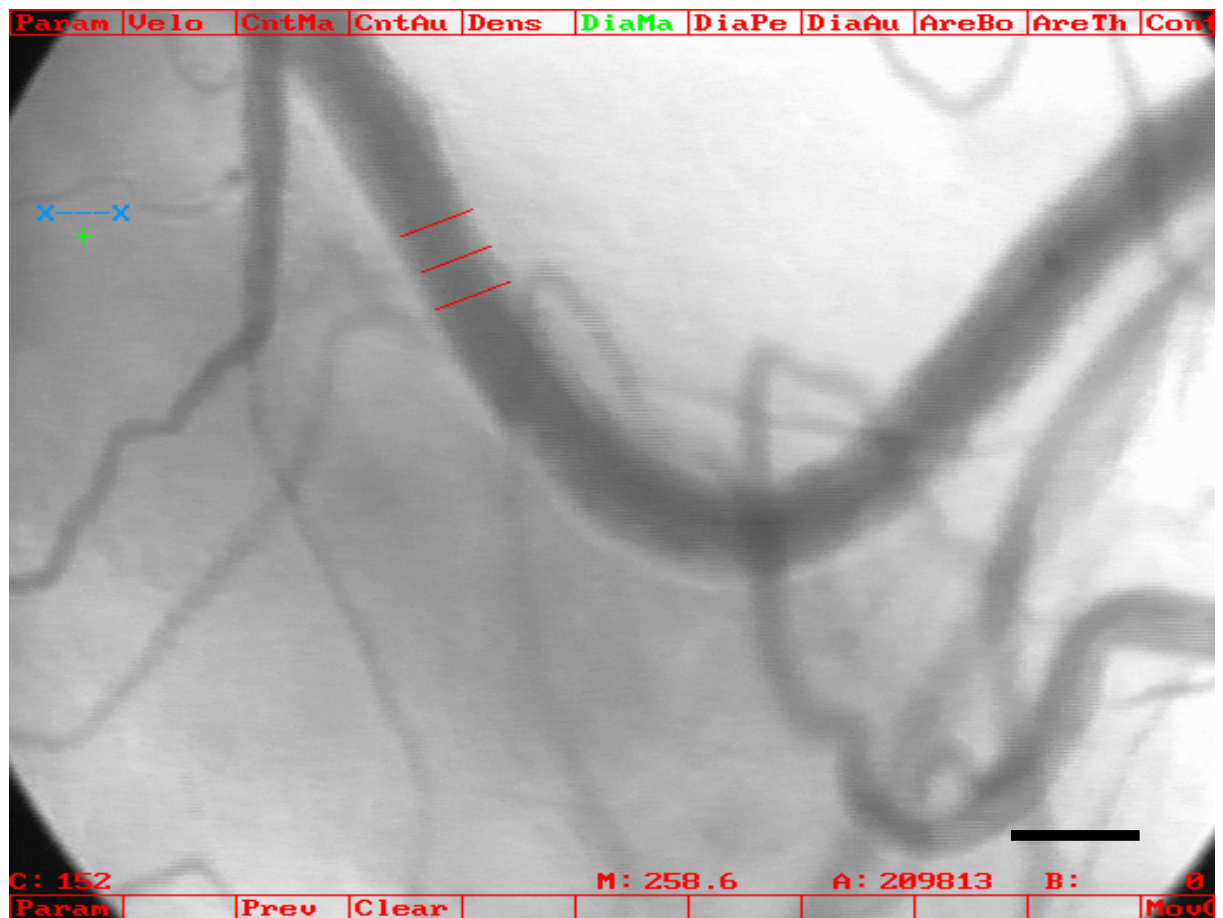


Abbildung 9: Messung des postkapillären Venolendurchmessers mittels Cap Image. Ausschnitt der sublingualen Mikrozirkulation mit ca. 1 mm Durchmesser, Eichmarke 100 μm . Es wird eine Linie zwischen den gefässbegrenzenden Endothelwänden gezogen und der mittlere Durchmesser aus 3 Messungen (in μm) ermittelt.

Abbildung 10

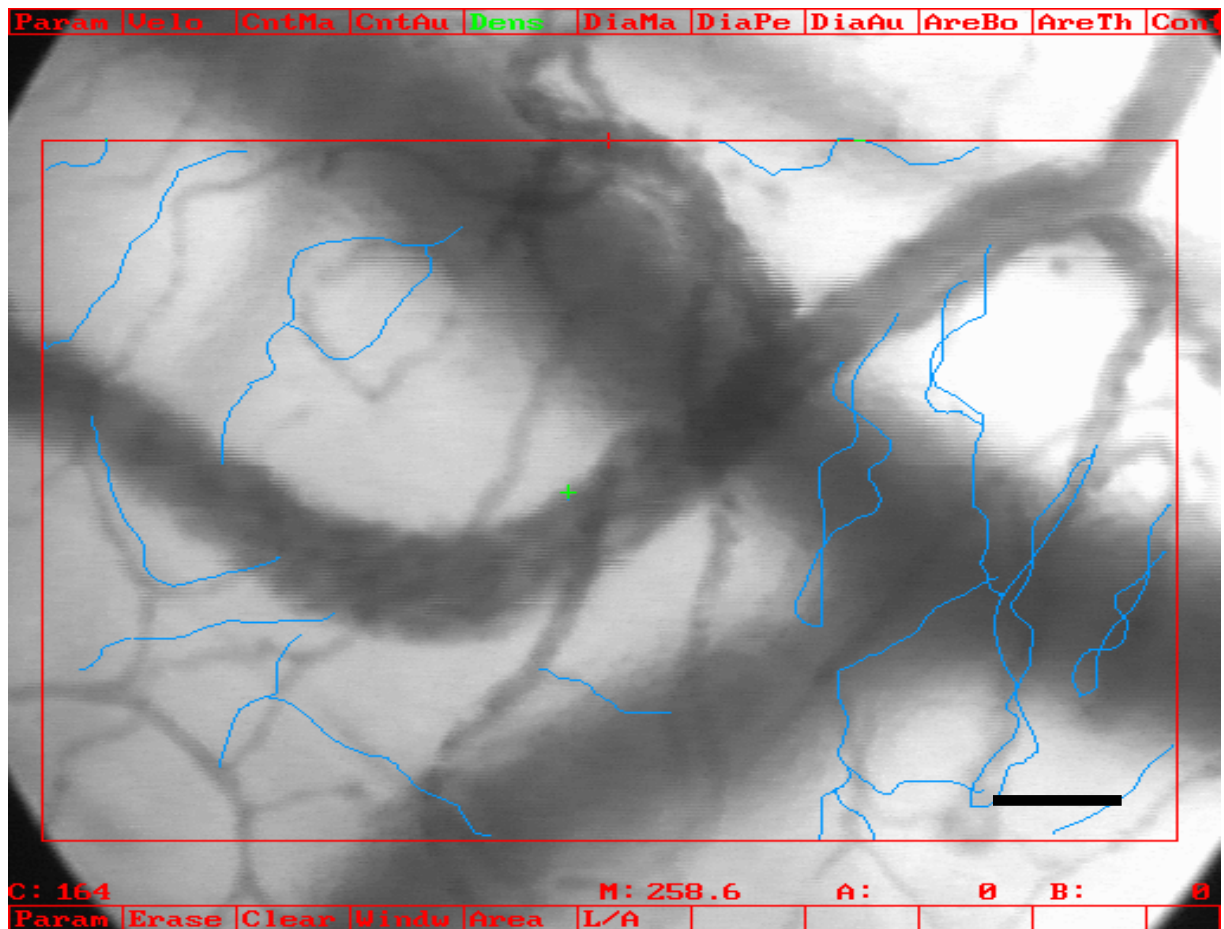


Abbildung 10: Messung der funktionellen Kapillardichte mittels Cap Image. Die sichtbaren Kapillaren werden mit der Mouse nachgezeichnet. Die Gesamtlänge der nachgezeichneten Kapillaren dividiert durch die ausgewählte Fensterfläche, ergibt die funktionelle Kapillardichte in cm/cm^2 . Ausschnitt der sublingualen Mikrozirkulation mit ca. 1 mm Durchmesser, Eichmarke 100 μm .

Abbildung 11

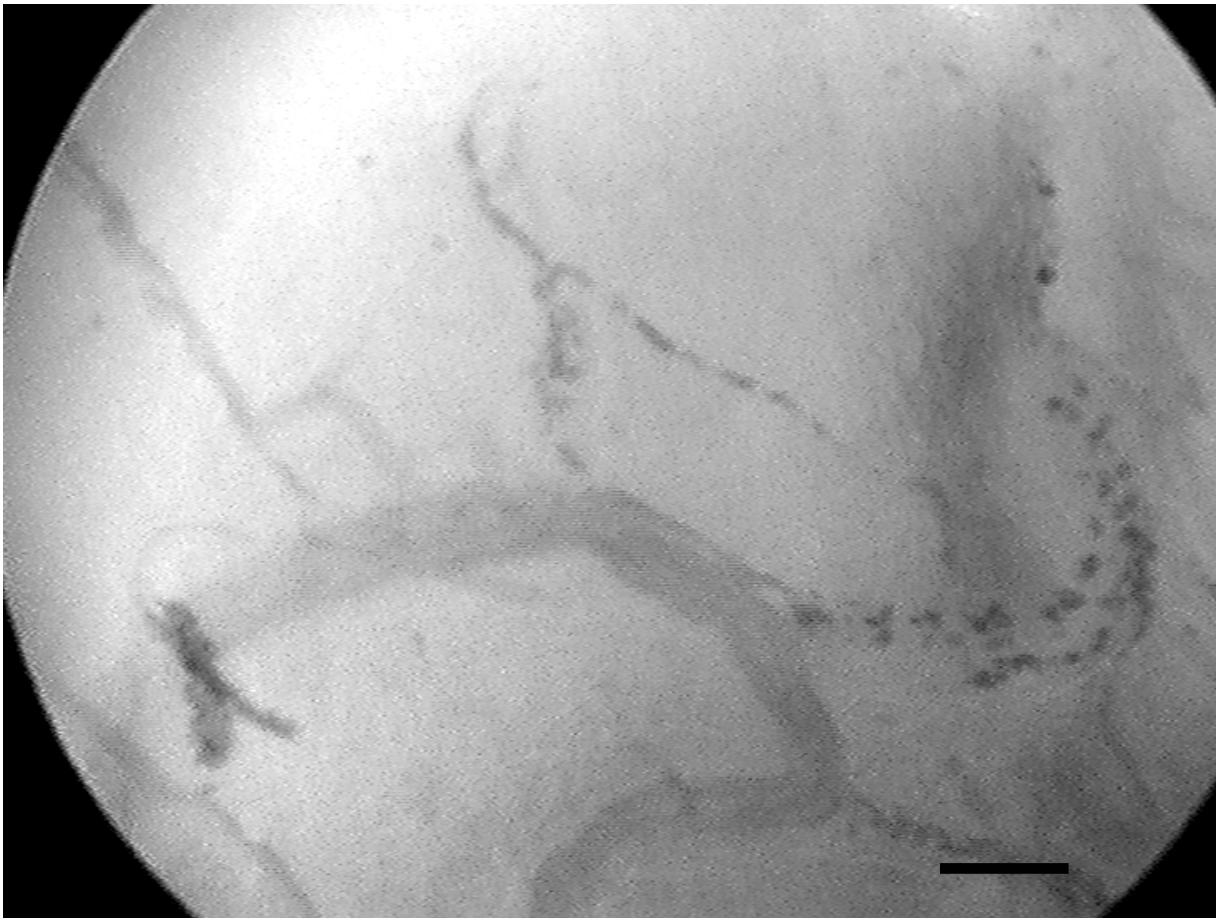


Abbildung 11: Die sublinguale Mikrozirkulation in der frühen Phase der HLM (T2). Die Reduktion des Bildkontrastes ist durch Hämodilution bedingt. Der initiale Hb- Wert von 8,1 mg/dl fiel auf 4,9 mg/dl, der Hkt lag bei 14,3 %. Es zeigen sich wenig Erythrozyten im Plasmastrom der postkapillären Venolen. Ausschnitt der sublingualen Mikrozirkulation mit ca. 1 mm Durchmesser, Eichmarke 100 μm .

Abbildung 12

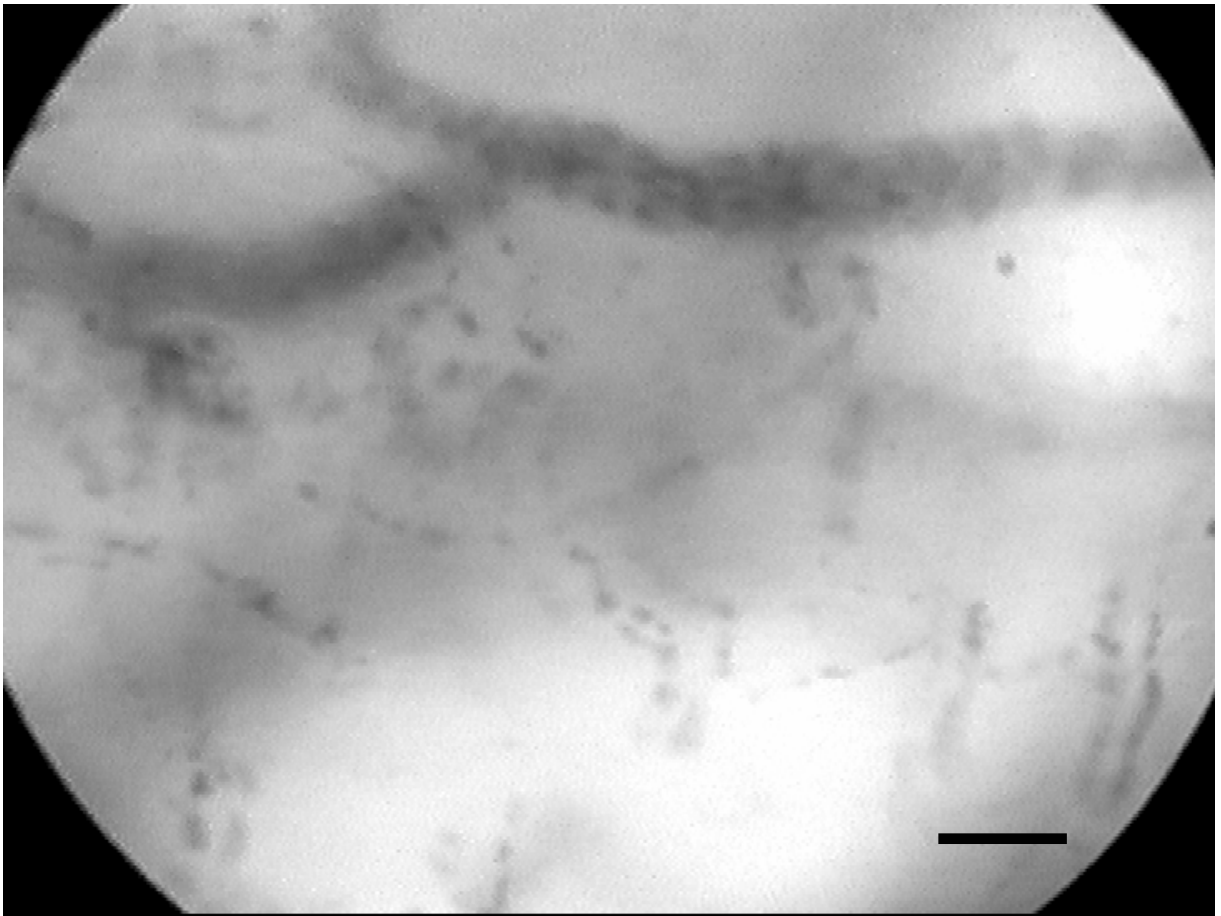


Abbildung 12: Die sublinguale Mikrozirkulation innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstands (T nach CA). Die Blutgefäße sind schwierig zu identifizieren. Die Kapillaren sind schlecht perfundiert und man sieht am bewegten Bild sludge- Phänomene. Der Kontrast des Bildes ist durch das zu beobachtende Zellödem nach Kreislaufstillstand vermindert. Ausschnitt der sublingualen Mikrozirkulation mit ca. 1 mm Durchmesser, Eichmarke 100 μm .

7 Literaturverzeichnis

1. ACCP and SCCM. ACCP-SCCM Consensus Conference: Definition of sepsis and multiple organ failure. Crit Care Med 1992; 20: 864.
2. Ansley DM, Qayumi AK and Duncan S: Platelet Activating Factor and Thromboxane B2 Production after Cardiopulmonary Bypass. J of Investigative Surgery 1997; 10: 87-95.
3. Belboul A, Lofgren C, Storm C, Jungbeck M: Heparin-coated circuits reduce occult myocardial damage during CPB: A randomized, single blind clinical trial. Eur J Cardiothorac Surg 2000; 17(5): 580-6.
4. Bertuglia S, Colantuoni A, Intaglietta M: Capillary reperfusion after L-arginine, L-NMMA, and L-NNA treatment in cheek pouch microvasculature. Microvascular Research 1995; 50: 162-74.
5. Biberthaler P, Langer S: Comparison of the New OPS Imaging Technique with Intravital Microscopy: Analysis of the Colon Microcirculation. Eur Surg Res 2002; 34: 124-8.
6. Biberthaler P, Langer S, Luchting B, Khandoga A, and Messmer K. In Vivo Assessment of Colon Microcirculation: Comparison Of The New OPSimaging Technique With Intravital Microscopy. Eur J Med Res 2001; 6: 525-534.
7. Birdi I, Caputo M, Underwood M, Bryan AJ, Angelini GD: The effects of cardiopulmonary bypass temperature on inflammatory response following cardiopulmonary bypass. Eur J Cardiothorac Surg 1999; 16(5): 540-5.
8. Boehm DH, Christ F, Harris AG, Reichenspurner H, Reichart B, Messmer K: First application of intravital microscopy on the beating heart using OPS imaging. J Vasc Res 2000; 37: 23.
9. Bollinger A, Butti P, Barras JP, Trachsler H, Siegenthaler W: Velocity of red blood cells in human nailfold capillaries measured by a television microscopy technique. Vasa 1974; 4(2): 163-4.
10. Bongard O, Fagrell B: Variations in laser Doppler flux and flow motion patterns in the dorsal skin of the human foot. Microvasc Res 1990; 39: 212-22.
11. Boyle EM, Jr., Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED: Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: ischemia- reperfusion. Ann Thorac Surg 1996; 62: 1868-75.
12. Brazy J: Skeletal muscle oxygenation monitoring by near infrared spectroscopy. Biochemistry International 1991 Sep; 25(2): 241-8.
13. Christ F, Bauer A, Brügger D: Different optical methods for clinical monitoring of the microcirculation. Eur Surg Res 2002; 34: 145-151.
14. Christ F, Genzel-Boroviczeny O, Schaudig S, Niklas M, Schiessler C, Strötgen J, Eifert S, Reichenspurner H, Harris AG, Messmer K: Monitoring of the

Microcirculation in Cardiac Surgery and Neonates Using Orthogonal Polarization Spectral Imaging. *Prog Appl Microc.* Basel, Karger 2000; 24: 82-93.

15. Christ F, Schaudig S, Schiessler C, Harris AG, Reichenspurner H, Seifert S, Thiel, M, and Messmer K. First visualisation of microvessels and rolling leukocytes during cardiac surgery in man using OPSimaging. *Anesthesiology* 2000; 92: 632.
16. Cryer HG: Therapeutic approaches for clinical ischemia and reperfusion injury. *Shock* 1997; 8: 26-32.
17. Davis MG, Hagen P-O. Systemic inflammatory response syndrome. *British Journal of Surgery* 1991; 84: 920-935.
18. De Backer D, Creteur J, Preiser J-C, Dubois M-J, Vincent J-L: Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 98-104.
19. De Backer D, Creteur J, Vincent J-L: Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging in Intensive Care. *Prog Appl Microcirc.* Basel, Karger 2000; 24: 104-9.
20. Dreyer WJ, Michael LH, Millman EE: Neutrophil activation and adhesion molecule expression in a canine model of open heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Res* 1995; 29: 775-81.
21. Dreyer WJ, Michael LH, Millman EE: Neutrophil sequestration and pulmonary dysfunction in a canine model of open heart surgery with cardiopulmonary bypass:evidence for a CD 18-dependent mechanism. *Circulation* 1995; 92: 2276-83.
22. Duebener LF, Sakamoto T, Hatsuoka S, Stamm C, Zurakowski D, Vollmar B, Menger MD, Schafers HJ, Jonas RA: Effects of hematocrit on cerebral microcirculation and tissue oxygenation during deep hypothermic bypass. *Circulation* 2001; 104: 1260-4.
23. Eising GP, Schad H, Heimisch W, Gippner-Steppert C, Jochum M, Braun SL, Mendler N, Meisner H, Lange R: Effect of cardiopulmonary bypass and hemofiltration on plasma cytokines and protein leakage in pigs. *Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 48 (2): 86-92.
24. Fagrell B: Advances in microcirculation network evaluation: an update. *Int J Microcirc Clin Exp* 1995; 15 Suppl 1: 34-40.
25. Fagrell B, Intaglietta M: Microcirculation: its significance in clinical and molecular medicine. *J Intern Med* 1997; 241: 349-62.
26. Gaudino M, Zamparelli R, Andreotti F, Burzotta F, Iacoviello L, Glieca F, Benedett M, Maseri A, Schiavello R, Possati G: Normothermia does not improve postoperative hemostasis nor does it reduce inflammatory activation in patients undergoing primary isolated coronary artery bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 1092-100.
27. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery* 1994; 81: 637-647.
28. Granger DN, Kubes P: The microcirculation and inflammation: modulation of leucocyte - endothelial cell adhesion. *J Leukocyte Biol.* 1994; 55: 662-75.

29. Gretz JE, Duling BR: Measurement uncertainties associated with the use of bright-field and fluorescence microscopy in the microcirculation. *Microvascular Research* 1995; 49: 134-40.
30. Groner W, Winkelmann JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, Nadeau RG: Orthogonal polarization spectral imaging: A new method for study of the microcirculation. *Nat Med* 2000; 5/10: 1209 –1213.
31. Harris AG, Hecht R, Peer F, D.Nolte, and Messmer K. An Improved Intravital Microscopy System. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1997; 17: 322-327.
32. Harris AG, Inga Sinitsina, and K.Messmer. Quantitative Analysis of Orthogonal Polarization Spectral Images. Validation in the Hamster Dorsal Skinfold Chamber. *Prog Appl Microcirc.* Basel, Karger. 2000; 24: 21-31.
33. Harris AG, Leiderer R, Peer F, Messmer K: Skeletal muscle microvascular and tissue injury after varying durations of ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996; 40: H 2388-H 2398.
34. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K: Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H 1502-H 1509.
35. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K. The Cytoscan Modell E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: comparison with standart fluorescence method. *J Vasc Res* 2000; 37: 469-476.
36. Harris AG, Steinbauer M, Leiderer R, Messmer K: Role of leukocyte plugging and edema in skeletal muscle ischemia- reperfusion injury. *Am J Physiol* 1997; 273: H 989-96.
37. Hearse DJ. Myocardial Injury during Ischemia and Reperfusion. Yellon DM and Jennings RB. Raven Press, Ltd., New York, 1992.
38. Heltne JK, Koller ME, Lund T, Bert J, Rynning SE, Stangeland L, Husby P: Dynamic evaluation of fluid shifts during normothermic and hypothermic cardiopulmonary bypass in piglets. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44: 1220-5.
39. Heltne JK, Koller ME, Lund T, Farstad M, Rynning SE, Bert JL, Husby P: Studies on fluid extravasation related to induced hypothermia during cardiopulmonary bypass in piglets. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45: 720-728.
40. Hensley FA, Martin DE: A Practical Approach to Cardiac Anesthesia. 1995.
41. Hoffmann U, Franzeck UK, Geiger M, Yanar A, Bollinger A: Variability of different patterns of skin oscillatory flux in healthy controls and patients with peripheral arterial occlusive disease. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1993; 12: 255-73.
42. Hoshi Y, Tamura M: Measurement of hemoglobin flow and blood flow by near-infrared spectroscopy. *Journal of Applied Physiology* 1993 Oct; 75(4): 1884-9.
43. Intaglietta M, Hammersen F: Measurement of diameter in microvascular studies. *Microcirculatory Technology*, Orlando, Academic Press 1986; 137-48.

44. Jain U: Myocardial ischemia after cardiopulmonary bypass. *J Card Surg* 1995; 10: 520-6.
45. Jennings RB, Yellon DM. *Reperfusion Injury Definitions and Historical Background*. Raven Press, Ltd. New York, 1992.
46. Jerome SN, Dore M, Paulson JC, Smith CW, Korthuis RJ: P-selectin and ICAM-1-dependent adherence reactions: role in the genesis of postischemic no-reflow. *Am J Physiol* 1994; 266: H 1316-21.
47. Jin X, Weil MH, Sun S, Tang W, Bisera J, Mason EJ: Decreases in organ blood flows associated with increases in sublingual PCO₂ during hemorrhagic shock. *J Appl Physiol* 1998; 85: 2360-4.
48. Jöbsis FF: Noninvasive, infra-red monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 1977; 198: 1264-1267.
49. Kameneva MV, Undar A, Antaki JF, Watach MJ, Calhoon JH, Borovetz HS: Decrease in red blood cell deformability caused by hypothermia, hemodilution, and mechanical stress: factors related to cardiopulmonary bypass. *ASAIO J* 1999; 45: 307-10.
50. Kirklin JK, Blackstone EH: *Cardiopulmonary Bypass: Studies on its damaging effects*. *Blood Purif* 1987; 5: 168-78.
51. Klyscz T, Junger M, Jung F, Zeintl H: Cap image-a newly developed computer-aided videoframe analysis system for dynamic capillaroscopy. *Biomed Technik* 1997; 42: 168-75.
52. Korthuis RJ, Anderson DC, Granger DN: Role of neutrophil-endothelial cell adhesion in inflammatory disorders. *J Crit Care* 1994; 9: 47-71.
53. Langer S, Born F, Hatz R, Biberthaler P, Messmer K: Orthogonal Polarization Spectral Imaging versus Intravital Fluorescent Microscopy for Microvascular Studies in Wounds. *Ann Plast Surg* 2001; 48: 646-53.
54. Langer S, Harris AG, Biberthaler P, von Dobschütz E, Messmer K: OPS Imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation. *Transplantation* 2001; 71: 1249-56.
55. Langer S, von Dobschütz E, Harris AG, Krombach F, Messmer K: Validation of the Orthogonal Polarization Spectral Imaging Technique on Solid Organs. *Prog Appl Microcirc* 2000; 24: 32-46.
56. Larach DR: *Anesthetic Management during Cardiopulmonary Bypass, Cardiac Anesthesia*, 2 Edition. Edited by Hensley FA, Martin DE. Boston, Little, Brown and Company, 1995; 193-218.
57. Levy BI, Ambrosio G, Pries A., Struijker-Boudier HAJ: Microcirculation in hypertension. A new target for treatment. *Circulation* 2001; 104: 735-40.
58. Lindert J, Werner J., Redlin M, Kuppe H, Habazettl H., Pries AR: OPSimaging of Human Microcirculation: A Short Technical Report. *J Vasc Res* 2002; 39: 368-72.

59. Mancini DM, Ferraro N, Nazzaro D, Chance B, Wilson Jr: Cerebral oxygen monitoring with near infrared spectroscopy: clinical application to neonates. *Journal of Clinical Monitoring* 1991 Oct; 7(4): 325-34.
60. Mathura KR, Bouma GJ, Ince C: Abnormal microcirculation in brain tumours during surgery. *Lancet* 2001; 358: 1698-9.
61. Mathura KR, Ince C: First clinical Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging. *Prog Appl Microcirc* 2000; 24: 94-101.
62. Mathura KR, Vollebregt KC, Boer K, De Graaff JC, Ubbink DT, Ince C: Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation. *J Appl Physiol* 2001; 91: 74-8.
63. Maxwell SRJ and Lip GYH. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J of Cardiology* 1997; 58: 95-117.
64. Mazzoni MC, Borgstrom P, Warnke KC, Skalak TC, Intaglietta M, Arfors KE: Mechanisms and implications of capillary endothelial swelling and luminal narrowing in low-flow ischemias. *Int J Microcirc Clin Exp* 1995; 15: 265-70.
65. Menger MD, Sack FU, Barker JH, Feifel G, Messmer K: Quantitative analysis of microcirculatory disorders after prolonged ischemia in skeletal muscle. Therapeutic effects of prophylactic isovolemic hemodilution. *Res Exp Med* 1988; 188: 151-65.
66. Menger MD, Steiner D, Messmer K: Microvascular ischemia - reperfusion injury in striated muscle: significance of "no-reflow". *Am J Physiol* 1992; 263: H1892-H1900.
67. Messmer K, Sunder-Plassmann L, Klövekorn WP, Holper K: Circulatory significance of hemodilution: Rheological changes and limitations. *Adv Microcirc* 1972; 4: 1-77.
68. Messmer K, Sack F-U, Menger MD, Bartlett B, Barker JH, Hammersen F: White cell-endothelium interaction during postischemic reperfusion of skin and skeletal muscle. *Adv Exp Med Biol* 1988; 242: 95-8.
69. Möhnle P, Goetz AE: Physiologische Effekte, Pharmakologie und Indikationen zur Gabe von Magnesium. *Anaesthesist* 2001; 50: 377-91.
70. Muckart DJ, Bhagwanjee S: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine, Consensus Conference: Definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients. *Crit Care Med* 1997; 25: 1789-1795.
71. Nathan HJ, Wells GA, Munson JL, Wozny D: Neuroprotective effect of mild hypothermia in patients undergoing coronary artery surgery with cardiopulmonary bypass: a randomized trial. *Circulation* 2001; 104: I85-I90.
72. Nolte D, Bayer M, Lehr HA, Becker M, Krombach F, Kreimeier U, Messmer K: Attenuation of postischemic microvascular disturbances in striated muscle by hyperosmolar saline dextran. *Am J Physiol* 1992; 263: H1411-6.

73. Nolte D, Lehr HA, Sack FU, Messmer K: Reduction of postischemic reperfusion injury by the vasoactive drug buflomedil. *Blood Vessels* 1991; 28 Suppl 1: 8-14.
74. Nolte D, Menger MD, Messmer K: Microcirculatory Models of Ischaemia-Reperfusion in Skin and Striated Muscle. *Int J Microcirc* 1995; 15 Suppl 1: 9-16.
75. Nolte D, Zeintl H, Steinbauer M, Pickelmann S, Messmer K: Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion? *Int J Microcirc* 1995; 15: 244-9.
76. Orime Y, Shiono M, Hata H, Yagi S, Tsukamoto S, Okumura H, Nakata K, Kimura S, Hata M, Sezai A, Sezai Y: Cytokine and endothelial damage in pulsatile and nonpulsatile cardiopulmonary bypass. *Artif Organs* 1999; 23: 508-12.
77. Pries AR : A versatile video image analysis system for microcirculatory research. *Int J Microcirc Clin Exp* 1988; 7(4): 327-45.
78. Rinder CS, Bonan JL, Rinder HM: Cardiopulmonary bypass induces leukocyte adhesion. *Blood* 1992; 79: 1201-5.
79. Rosenkranz ER, Buckberg GD: Myocardial protection during surgical coronary reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1: 1235-1246.
80. Sablotzki A, Mann V, Simm A, Czeslick E: Changes in the cytokine network through escalating SIRS after heart surgery. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2001; 36: 552-559.
81. Sack F-U, Hagl S: Extracorporeal circulation and intestinal microcirculation: pathophysiology and therapeutical options. *Eur Surg Res* 2002; 34: 129-137.
82. Saetzler RK, Jallo J, Lehr HA, Philips CM, Vasthare U, Arfors KE, Tuma RF : Intravital fluorescence microscopy: impact of light-induced phototoxicity on adhesion of fluorescently labeled leucocytes. *J Histochem Cytochem* 1997; 45: 505-513.
83. Schaudig S, Dadasch B, Kellam K, Christ F: Validation of an analysis software for OPS Imaging used in humans. *Proceedings of the 7th World Congress for Microcirculation* 2001; 2-59.
84. Schaudig S, Schiessler C, Harris AG, Reichensperner H, Messmer K, Christ F: Intravital microscopy in humans following circulatory arrest for surgery of the ascending aorta. *J Vasc Res* 2001; 38: 502.
85. Shoemaker WC, Appel PL, Bland R, Hopkins JA, Chang P: Clinical trial of an algorithm for outcome prediction in acute circulatory failure. *Critical Care Medicine* 1982; 10: 390-7.
86. Slaaf DW, Tangelder GJ, Reneman RS, Jäger K, Bollinger A: A versatile incident illuminator for intravital microscopy. *Int J Microcirc* 1987; 6: 391-7.
87. Spronk PE, Ince C, Gardien MJ, Mathura KR, Oudemans-van Straaten HM, Zandstra DF: Nitroglycerin in septic shock after intravascular volume resuscitation. *Lancet* 2002; 360: 1395-6.

88. Steinbauer M, Harris AG, Messmer K: Effects of dextran on microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle. *Am J Physiol* 1997; 272: H1710-6.
89. Stern M: In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature* 1975; 254: 56-8.
90. Talmor M, Hydo L, Barie PS: Relationship of systemic inflammatory response syndrome to organ dysfunction, length of stay and mortality in critical surgical illness: effect of intensive care unit resuscitation. *Arch Surg* 1999; 134: 81-87.
91. Tassani P, Schad H, Winkler C, Bernhard A, Ettner U, Braun SL, Eising GP, Kochs E, Lange R, Richter JA: Capillary leak syndrome after cardiopulmonary bypass in elective, uncomplicated coronary artery bypass grafting operations: does it exist? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 735-41.
92. Tenland T, Salerud EG, Nilsson GE, Öberg PA: Spatial and temporal variations in human skin blood flow. *Int J Microcirc Clin Exp* 1983; 2: 81-90.
93. Thiel M, Zourelidis C, Peter K: Die Rolle der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten in der Pathogenese des akuten Lungenversagens (ARDS). *Anaesthesist* 1996; 45: 113-130.
94. Thomale UW, Schaser KD, Unterberg AW, Stover JF: Visualization of rat pial microcirculation using the novel OPSimaging after brain injury. *J of Neuroscience Methods* 2001; 108: 85-90.
95. Tooke JE: Microvasculature in Diabetes. *Cardiovasc Res* 1996; 32: 764-71.
96. Tooke JE, Morris SJ, Shore AC: Microvascular functional abnormalities in diabetes: the role of the endothelium. *Diabetes Res Clin Pract.* 1996; 31: S127-32.
97. Uhl E, Lehmberg J, Steiger HJ, Messmer K: Intraoperative observation of human cerebral microcirculation. *Prog Appl Microcirc* 2000; 24: 72-81.
98. Undar A, Masai T, Frazier OH, Fraser CD: Pulsatile and nonpulsatile flows can be quantified in terms of energy equivalent pressure during cardiopulmonary bypass for direct comparisons. *ASAIO J* 1999; 45: 610-4.
99. Undar A, Masai T, Yang SQ, Eichstaedt HC, Mc Garry MC, Vaughn WK, Fraser CD: Pulsatile perfusion improves regional myocardial blood flow during and after hypothermic cardiopulmonary bypass in a neonatal piglet model. *ASAIO J* 2002; 48: 90-5.
100. Vazquez-Jimenez JF, Qing M, Hermanns B, Klosterhalfen B, Woltje M, Chakupurakal R, Schumacher K, Messmer BJ, von Bernuth G, Seghaye MC: Moderate hypothermia during cardiopulmonary bypass reduces myocardial cell damage and myocardial cell death related to cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1216-23.
101. Vink H, Duling BR: Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes and leukocytes within mammalian capillaries. *Circulation Research* 1996; 79: 581-9.

102. Wagner FM, Schiller W, Dilg G, Depner C, Welz A, Lacour-Gayet F: Young Investigator's Prizewinner 2001. Direct visualization of the influence of normothermic as opposed to hypothermic cardiopulmonary bypass on the systemic microcirculation in neonatal piglets. *Cardiol Young* 2001; 11: 532-8.
103. Wan S, Le Clerc JL, Antoine M, De Smet JM, Yim AP, and Vincent JL. Heparin-coated circuits reduce myocardial injury in heart or heart-lung transplantation: a prospective, randomized study. *Ann Thorac Surg* 1999; 68(4): 1230-1235.
104. Wan S, Le Clerc JL, Vincent JL: Cytokine responses to cardiopulmonary bypass: lessons learned from cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg.* 1997; 63: 269-76.
105. Weil MH, Nakagawa Y, Tang W, Sato Y, Ercoli F, Finegan R, Grayman G, Bisera J: Sublingual capnometry: a new noninvasive measurement for diagnosis and quantitation of severity of circulatory shock. *Crit Care Med* 1999; 27: 1225-9.
106. Worthen GS, Schwab B, Elliot LE, Downey GP: Mechanics of stimulated neutrophils: cell stiffening induces retention in capillaries. *Science* 1989; 245: 183-6.
107. Zeintl H, Tompkins WR, Messmer K, Intaglietta M: Analyse stehender und bewegter Videobilder in der klinischen Mikrozirkulationsforschung. *Methoden der klinischen Kapillarskopie*. Karger Verlag Basel , 1986; 1-10.

8 Abkürzungen

ACT- Zeit	activated clotting time
BE	Standard Basenüberschuss
CA	cardiac arrest, Kreislaustillstand
CaO ₂	Arterieller O ₂ - Gehalt
CABG	coronary artery bypass grafting
Dia	Venolärer Gefäßdurchmesser
DO ₂ I	Sauerstoffangebotsindex
EK	Erythrozyten- Konzentrat
EKG	Elektrokardiogramm
FCD	Funktionelle Kapillardichte
FFP	Fresh Frozen Plasma
FiO ₂	Inspiratorische O ₂ - Konzentration
Hb	Hämoglobinkonzentration
HES	Hydroxylethylstärke
HF	Herzfrequenz
HI	Herzindex
Hkt	Hämatokrit
HLM	Herz- Lungen- Maschine
HZV	Herzzeitvolumen
i.v.	Intravenöse Verabreichung
IVM	Intravitalmikroskopie
K ⁺	Serum- Kalium
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MODS	multiple organ dysfunction syndrome
MPAP	Mittlerer pulmonalarterieller Druck
Na ⁺	Serum- Natrium
NaCl	Natrium Chlorid, Kochsalz
NO	Stickstoffoxid
OPS imaging	orthogonal polarisation spectral imaging
P _a CO ₂	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PAF	Plättchen- Aktivierungsfaktor
P _a O ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PCWP	Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (Wedgedruck)
pH	Arterieller pH- Wert
PMNL	Polymorphkernige Leukozyten neutrophile
P _v O ₂	Gemischtvenöser Sauerstoffpartialdruck
PVRI	Pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstandsindex
rFIU	relative fluorescence unit
RR diast	Diastolischer arterieller Blutdruck
RR syst	Systolischer arterieller Blutdruck
Sat _v O ₂	Gemischtvenöse Sauerstoffsättigung
SHCO ₃ ⁻	Standardbikarbonat
SIRS	systemic inflammatory response syndrome

SO ₂	Arterielle Sauerstoffsättigung
SVRI	Systemischer Gefässwiderstandsindex
T after CA	Messzeitpunkt in Gruppe 2 innerhalb 10 Minuten nach Beendigung des Kreislaufstillstands
T1	Messzeitpunkt sofort nach Narkosebeginn
T2	Messzeitpunkt in der frühen Phase der extrakorporalen Zirkulation, 30 Minuten nach Beginn der HLM
T3	Messzeitpunkt in der späten Phase der extrakorporalen Zirkulation, 30 Minuten vor Beendigung der HLM
T4	Messzeitpunkt 1 Stunde nach Reperfusion
TK	Thrombozytenkonzentrat
Vel	Erythrozyten- Fließgeschwindigkeit
ZVD	Zentraler Venendruck

9 Danksagung

Für Ihre Unterstützung und Mithilfe möchte ich all jenen danken, welche mir bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite gestanden haben. Besonderer Dank gebührt meinem Tutor Herrn PD Dr. Frank Christ für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, sowie für seine fachliche Anleitung und motivierende Unterstützung. Weiterhin möchte ich allen an der Studie beteiligten Anästhesisten unter Leitung von Herrn Prof. Dr. hc. mult. K. Peter, den Herzchirurgen unter Leitung von Herrn Prof. Dr. B. Reichart und dem anästhesiologischen Pflegepersonal danken. Für die Möglichkeit der Auswertung dieser Studie am Institut für Chirurgische Forschung gebührt Herrn Prof. Dr. mult. hc. K. Messmer und für die dortige Unterstützung Herrn Dr. Anthony Harris Dank. Ich möchte mich weiters namentlich bei Herrn PD. Dr. Manfred Thiel und Dr. Alexander Chouker für die Protektion im Labor bedanken. Schließlich gebührt meiner Familie Dank, die mich sehr unterstützt hat.

10 Lebenslauf

Name Sieglinde Kofler-Schaudig
Heiglhofstraße 64, 302
81377 München

Geburtsdaten 18. Mai 1971 in Schlanders, Italien

Schul Ausbildung

1977-1982	Grundschule in Tschars, Südtirol
1982-1987	Mittelschule in Latsch, Südtirol & Berufsfachschule in Mals, Südtirol
1987-1990	Krankenpflegeschule in Meran, Südtirol
1992-1996	Abitur am Münchenkolleg in München mit Schwerpunkten Biologie und Deutsch

Studium

1996-2002	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
11/1999	1. Staatsexamen
11/2001	2. Staatsexamen
11/2002	3. Staatsexamen

Famulaturen

03/1999	Chirurgie	Abteilung für Transplantationschirurgie, Chirurgische Klinik und Poliklinik der LMU München (Prof. Dr. Land)
10-11/1999	Anästhesie	Klinik für Anästhesiologie der LMU München (Prof. Dr. Dr. h.c. K. Peter)
09/2000	Kardiologie	III. Medizinische Abteilung des Städtischen Krankenhauses München-Harlaching (CA Dr. Lindlbauer)
02-03/2001	Innere Medizin	Internistische Facharztpraxis Dr. P. Sarfati, München

Praktisches Jahr 10/2001-09/2002

1. Tertial	Innere Medizin	Medizinische Klinik und Poliklinik I der LMU München (Prof. Dr. Steinbeck)
2. Tertial	Chirurgie	Royal Devon & Exeter Medical School, Exeter, Grossbritannien
3. Tertial	Anästhesie	Klinik für Anästhesiologie der LMU München (Prof. Dr. Dr. h.c. K. Peter)

Promotion

2000-2002	klinisch-experimentelle Doktorarbeit an der Klinik für Anästhesiologie (Prof. Dr. Dr. h.c. Peter) und am Institut für Chirurgische Forschung (Prof. Dr. Dr. h.c. Messmer) der Ludwig-Maximilians- Universität, München (Thema: „Mikrozirkulatorisches Monitoring mittels Orthogonal Polarisation Spectral Imaging (OPS) während herzchirurgischer Eingriffe unter extrakorporaler Zirkulation“ betreut durch Herrn OA PD Dr. med. Christ	
-----------	--	--

Berufstätigkeit

1990-1992	Diplomkrankenschwester in der Notaufnahme und im Anästhesie-Außenbereich, Klinikum Grosshadern	
1992	Weiterbildung zur anästhesiologischen Fachschwester in der Klinik für Anästhesiologie der LMU München	
1993-1999	Anästhesieschwester (Teilzeit) im OP- Bereich der Herzchirurgie, Chirurgie und Orthopädie sowie auf der anästhesiologischen Intensivstation H2, Klinikum Grosshadern	
seit 2000	Diplomkrankenschwester (Teilzeit) auf der interdisziplinären Notaufnahmestation G0, Klinikum Grosshadern	

sonstige Tätigkeiten

2000-2001	Mitarbeiterin im Koordinationsbüro der LMU- Harvard Medical School, Alliance for Medical Education	
2000-2001	freie wissenschaftliche Mitarbeiterin von Cytometrics, Inc., Philadelphia, USA (Dr. RG Nadeau)	

11 Publikationen

1. **S. Schaudig**, M. Niklas, C. Schiessler, A. G. Harris, H. C. Reichenspurner, S. Eiffert, K. Messmer and F. Christ. (2000) Intravital microscopy in humans during cardiac surgery. *J Vasc Res* 2000; 37: 10 (Suppl. 1, Abstract).
2. Christ, F., **S. Schaudig**, C. Schiessler, A. G. Harris, H. C. Reichenspurner, S. Eiffert, M. Thiel and K. Messmer (2000) First visualisation of microvessels and rolling leukocytes during cardiac surgery in man using orthogonal polarisation spectral imaging. *Anesthesiology* 2000; 92: A632 (Suppl. 1, Abstract).
3. **Schaudig, S.**, C. Schiessler, A. G. Harris, H. C. Reichenspurner, K. Messmer and F. Christ. (2001) Intravital microscopy in humans following circulatory arrest for surgery of the ascending aorta. *J Vasc Res* 2001; 38: 502 (Abstract).
4. Christ, F., **S. Schaudig**, O. Genzel-Boroviczeny, J. Strötgen, A. G. Harris and K. Messmer. (2001) Use of OPS imaging in neonates and patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Proceedings of the 7th World Congress for Microcirculation* 2001; S-9-3 (Abstract).
5. **Schaudig, S.**, B. Dadasch, K. R. Kellam and F. Christ. (2001) Validation of an analysis software for OPS imaging used in humans. *Proceedings of the 7th World Congress for Microcirculation* 2001; S-2-59 (Abstract).
6. **S. Schaudig**, A. G. Harris, H. Reichenspurner, M. Thiel, B. Reichart, K. Messmer, F. Christ. (2002) Intravital microscopy in humans following circulatory arrest for surgery of the ascending aorta. *Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 50: 51 (Abstract).
7. Christ, F., **S. Schaudig**, M. Thiel, A.G. Harris, C. Schiessler, S. Eiffert, H. C. Reichenspurner, B. Reichart, K. Peter and K. Messmer. (2002) Monitoring of the sublingual microcirculation in cardiac surgery using orthogonal polarisation spectral imaging (OPS). *Anesthesiology* (accepted)
8. Schießler, C., **S. Schaudig**, A.G. Harris, F. Christ. (2002) Orthogonal Polarisierete Spektral-Images eine neue klinische Methode für das Monitoring der Mikrozirkulation. *Der Anästhesist* 2002; 51:7; 576- 579
9. Christ, F., O. Genzel-Boroviczeny, **S. Schaudig**, M. Niklas, C. Schiessler, J. Strötgen, S. Eiffert, H. Reichenspurner, A. G. Harris and K. Messmer. (2000) Monitoring of the microcirculation in cardiac surgery and neonates using Orthogonal Polarisation Spectral imaging. A New Tool for the Observation and Measurement of the human Microcirculation Research erschienen in 'Progress in applied microcirculation', 24: 82-93. herausgegeben von K. Messmer im Karger-Verlag, Basel.